

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Уральский государственный медицинский университет»
Государственное автономное учреждение здравоохранения
Свердловской области
«Центр специализированных видов медицинской помощи
«Институт медицинских клеточных технологий»

В. Н. Мещанинов, Д. Л. Щербаков, В. А. Лукаш

МЕТАБОЛИЗМ КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР ПРИ СТАРЕНИИ И СТРЕССЕ

Монография

Екатеринбург
Издательство УГМУ
2017

УДК 12.67:577
ББК 28.707.3
М56

*Печатается по решению Ученого совета
педиатрического факультета
ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России
(протокол № 9 от 12.05.2017)*

*Ответственный редактор
д-р мед. наук, проф. С. Л. Леонтьев*

*Рецензент
д-р мед. наук, проф. В. С. Мякотных*

Мещанинов, В. Н.

М56 *Метаболизм клеточных структур при старении и стрессе [Текст] :
монография / В. Н. Мещанинов, Д. Л. Щербаков, В. А. Лукаш; ФГБОУ ВО
УГМУ Минздрава России. — Екатеринбург : Изд-во УГМУ, 2017. — 308 с.*

ISBN 978-5-89895-850-3

Монография посвящена решению проблемы современной экспериментальной медицины по использованию клеточно- и субклеточно-ориентированных технологий в геронтологии. Монография расшифровывает ведущие биохимические механизмы старения организма экспериментальных животных в виде взаимодействия процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной защиты в тканях, клетках и субклеточных структурах животных при иммобилизационном стрессном воздействии, провоцирующем ускоренное старение, и модулировании этих состояний различными нейрометаболитами. Показаны последствия воздействия на организм клеточно- и субклеточно-ориентированных стрессорных факторов и возможности использования корректоров-антиоксидантов, геропротекторов в лечении последствий иммобилизационного прооксидантного стресс-возраст-синдрома. Монография призвана привлечь внимание к сложной и неоднозначной ситуации в клеточных структурах и субклеточных элементах в условиях старения и воздействия на организм экстремальных факторов, а также и при использовании корректоров. Исследование сделало один из первых шагов в попытке адресной доставки препаратов-корректоров к субклеточным структурам клеток. Монография предназначена для врачей и научных работников в области возрастной физиологии, патологии, неврологии, геронтологии, биохимии, клеточных медицинских технологий.

УДК 12.67:577
ББК 28.707.3

ISBN 978-5-89895-850-3

© Мещанинов В. Н., 2017
© Щербаков Д. Л., 2017
© Лукаш В. А., 2017
© УГМУ, 2017

ПРЕДИСЛОВИЕ

Процесс ускоренного старения организма является результатом воздействия на него разнообразных повреждающих факторов, а также не исключено, что и неадекватно протекающих в этих условиях адаптивных процессов. Современные возможности антивозрастной терапии у человека и высших млекопитающих весьма ограничены. Это может быть связано с гетерохронностью, гетеротопностью, гетерокинетичностью и гетерокатефтенностью процессов старения организма. При этом одним из универсальных механизмов старения и повреждения клеток является активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) в них. Изменение интенсивности ПОЛ и адаптивное изменение антиокислительной активности (АОА) имеет решающее значение в реализации механизмов старения организма. На процессы ПОЛ влияют многие факторы, один из них — это стресс-реакция, вызванная экстремальным воздействием, и репаративная регенерация.

Стресс-воздействие приводит к развитию в организме общего адаптационного синдрома, ведущую роль в котором играет вегетативная нервная система. Известно, что вегетативная нервная система влияет на ряд функций организма, но о влиянии на систему перекисного окисления липидов и антиокислительной активности (ПОЛ/АОА) при стрессе данных недостаточно. Нейромедиаторы симпатического отдела вегетативной нервной системы (адреналин, норадреналин) участвуют в изменениях системы ПОЛ/АОА при стрессе, о влиянии нейромедиаторов парасимпатического отдела (ацетилхолин) на изменения интенсивности процессов ПОЛ информации у других авторов не найдено. К тому же, в литературных источниках, в основном, обсуждается вопрос о влиянии адреналина и ацетилхолина на ПОЛ организмов зрелого возраста, но в возрастном аспекте при сравнении организмов зрелого и старого возраста информации недостаточно. При этом ряд заболеваний, связанных с вынужденной гипокинезией организма (травмы,

постинсультные состояния), сопровождается активацией ПОЛ, особенно у пациентов пожилого возраста.

Одним из ведущих адаптивных процессов при старении в условиях воздействия повреждающих факторов является репаративная регенерация.

Репаративная регенерация, как правило, сопровождается изменением уровня ПОЛ и АОА. Кроме того, известна зависимость скорости репаративной регенерации и процессов старения. В качестве элементарной формы проявления репаративной регенерации на субклеточном уровне, можно рассматривать мембраногенез. Оценить значение перекисного окисления липидов для образующихся мембран субклеточных органелл регенерирующего органа невозможно без оценки фосфолипидного обмена в этих мембранах, что не нашло достаточного освещения в научной литературе. Основная часть липидов в мембранах представлена фосфолипидами, и их метаболизм (соотношение катаболических и анаболических процессов, активность окислительных процессов) влияет на проницаемость и другие формы биологической активности клеточных мембран. Липолитические ферменты, в том числе фосфолипаза А₂, влияя на метаболизм фосфолипидов, являются одним из инструментов, регулирующих регенераторные процессы, о чем имеются лишь единичные работы.

Процесс регенерации печени животных подробно описан в литературе, как и его гистологические и цитологические особенности, связанные со старением. Однако взаимное влияние процессов ПОЛ и регенерации в печени животных продолжает интересовать исследователей, а возрастной аспект данного влияния слабо освещен в литературе. Поэтому вызывает интерес изучение процессов ПОЛ и АОА в клеточных и субклеточных структурах печени у животных разного возраста при стресс-реакции.

Антивозрастная терапия в реальных условиях ускоренного экстремальными воздействиями или патологией старения организма мало эффективна, в том числе, по-видимому, поскольку она мало ориентирована на отдельные органы, ткани, виды клеточных элементов, их составляющие. Исследования, нацеленные на разработку субклеточных антивозрастных воздействий, единичны. В литера-

туре имеются данные о синтетических препаратах, адресно ориентированных на устранение в организме многочисленных конкретных нозологий, вызванных иммобилизационным стресс-воздействием и активацией ПОЛ, но слабо разработан вопрос о воздействиях на стресс-реакцию как единую этио-патофизиологическую основу этих патологий. У ряда авторов обсуждается вопрос об адаптивных и антиоксидантных свойствах нейрометаболита мелатонина при экстремальных воздействиях, и, в частности, при вынужденной иммобилизации организма. Мелатонин является производным аминокислоты L-триптофан, образование которого в организме может усиливаться под воздействием никотиновой кислоты. Нами в исследованиях на лабораторных животных зрелого и старого возраста показано антиоксидантное стресс-корректирующее возрастзависимое воздействие сочетанного воздействия триптофана и никотиновой кислоты на организм.

Решение актуальной проблемы адекватно обоснованной возраст-зависимой диагностики и коррекции метаболических нарушений на организменном, органном, клеточном и субклеточном уровнях будет способствовать формированию и внедрению в экспериментальную и клиническую практику персонализированных векторно- и личностно-ориентированных мероприятий.

ГЛАВА 1.

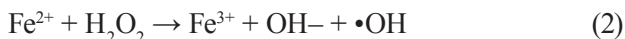
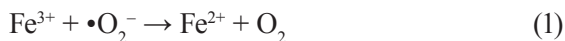
ОБЗОР СОВРЕМЕННЫХ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О КЛЕТОЧНЫХ И СУБКЛЕТОЧНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЯХ В ГЕРОНТОЛОГИИ

1.1. Перекисное окисление липидов и антиокислительная активность в норме

СРО (свободнорадикальное окисление) — это сложный, многоступенчатый физиологический процесс, обеспечивающий регуляцию клеточной активности и функций организма и имеющий несколько взаимосвязанных механизмов.

ПОЛ (перекисное окисление липидов) — это одна из разновидностей СРО процессов, в качестве субстрата преимущественно использует ненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов биологических мембран с образованием циклических эндоперекисей и гидроперекисей [27; 43; 294]. Перекисное окисление усиливается при снижении антиоксидантной активности клетки, повышении содержания полиненасыщенных жирных кислот, при избытке катехоламинов, гипоксии и ишемии [10; 53; 67; 268; 409].

Одним из самых сильных кислородсодержащих окислителей, образующихся в организме, можно назвать гидроксильный радикал $\cdot\text{OH}$, который образуется в химической реакции, открытой Габером и Вейсом:



(Реакция Габера — Вейса)

Кроме того, реакция Гарбера-Вейса катализируется ионами металлов с переменным зарядом, которые должны присутствовать в клетке, по крайней мере, в следовых количествах [175; 197].

Под влиянием индуцирующих ПОЛ агентов образуется радикал полиненасыщенной жирной кислоты. При делокализации в радикалах электронной плотности образуются конъюгированные диены, которые легко взаимодействуют с кислородом, образуя перекисные радикалы. Дальнейшее разветвление цепи ПОЛ происходит благодаря взаимодействию перекисных радикалов с ненасыщенными жирными кислотами, в результате чего образуются гидроперекиси и новые радикалы. Гидроперекиси жирных кислот, в свою очередь, восстанавливаются до соответствующих гидроокисей с помощью фермента селеновой глутатионпероксидазы [364].

В другом случае возможно расщепление перекиси фосфолипида с появлением карбонильной группы в его молекуле и образованием свободного альдегида. Вторичная радикальная атака на карбонил-фосфолипид с дальнейшим присоединением кислорода приводит к образованию альдегидгидроперекиси, которая отщепляет молекулу малонового диальдегида (МДА) наиболее известного из продуктов ПОЛ [38; 373; 403].

ПОЛ — это цепной, нарастающий во времени разрушительный процесс, в который вовлекается не только мембрана клетки, но и вся клетка. Таким образом, клетке необходим фактор, сдерживающий и регулирующий ПОЛ. Этим фактором, действующим практически на всех стадиях процесса, является «структурный антиоксидантный эффект», который рассматривается как комплекс свойств липидного бислоя мембран, ограничивающих доступность активных форм кислорода, катализаторов ПОЛ, радикальных интермедиатов к полиеновым ацилам фосфолипидов [74; 497].

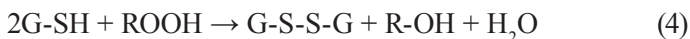
В организме присутствуют вещества — антиоксиданты, реагирующие с перекисными радикалами, вызывая их инактивацию [117; 164; 238; 393]. Перечень естественных антиоксидантов включает гидрофобные (витамины Е, А, К стероидные гормоны) и гидрофильные (витамины С, Р, РР, производные хинона) вещества. Благодаря этому

защита от окисляющих агентов одновременно может осуществляться как в водной среде, так и в липидной фазе [338].

Ферментативная система антиоксидантной защиты организма представлена следующей группой ферментов [112; 391]:

а) супероксиддисмутаза, которая обеспечивает превращение высокоактивного супероксидного аниона ($\bullet\text{O}_2^-$) в менее активный окислитель — перекись водорода (H_2O_2);

б) глутатионпероксидазы, которые катализируют оксидоредукцию между восстановленным глутатионом и гидроперекисями жирных кислот, обезвреживая последние путем их превращения в жирные оксикислоты:



Кроме того, одна из глутатионпероксидаз (Se-зависимая) разрушает пероксид водорода:



G-SH — восстановленный глутатион; G-S-S-G — окисленный глутатион.

Окисленный глутатион восстанавливается глутатионредуктазой с использованием НАДФН₂, образующегося в пентозофосфатном цикле;

в) каталаза и пероксидаза, разрушающие H_2O_2 .

Свободные радикалы являются активными участниками большого числа химических реакций, протекающих в живых клетках, играют важную роль в ферментативных процессах. ПОЛ является нормальным метаболическим процессом, широко представленным во всех органах и тканях организма [33; 137; 141; 241; 378]. Через стадию перекисных производных полиненасыщенных жирных кислот осуществляется биосинтез простагландинов; образование гидроперекиси холестерина является одним из звеньев синтеза некоторых стероидных гормонов; с помощью микросомальной системы ПОЛ происходит регуляция активности мембрансвязанных ферментов эндоплазматической системы [33; 111; 529]. С процессами ПОЛ связаны такие биологические явления как окислительное фосфорилирование в митохондриях, генерация

и проведение нервного импульса, клеточное деление, механизмы регуляции мембранной проницаемости и активности мембранных ферментов [119; 203].

В норме, благодаря влиянию общей антиокислительной активности (АОА) тканей, уровень ПОЛ поддерживается в организме на достаточно низком уровне. Минимальные значения ПОЛ у людей и животных наблюдаются в сыворотке крови в среднем возрасте, максимум в молодом и старческом возрасте. Более низкий уровень ПОЛ отмечается у женщин по сравнению с мужчинами [92; 280; 491]. Как правило, более высокий уровень АОА и низкий ПОЛ характерен для органов с интенсивным метаболизмом, в частности для головного мозга. Высокая интенсивность АОА и низкий уровень ПОЛ наблюдаются в периферической крови и костном мозге [142; 141]. В печени уровень ПОЛ выше, а АОА — ниже, чем в периферической крови и костном мозге [171]. Высокая защищенность системы крови антиоксидантами делает ее достаточно устойчивой к воздействию экстремальных факторов и возрастных изменений.

ПОЛ участвует в трансформации жирных кислот в углеводы [21], интенсивность ПОЛ оказывает влияние на активность мембранных белков [78; 163]. Особое значение придается липопероксидам в регуляции синтеза ДНК, РНК и белковых макромолекул [4; 69]. Было показано, что в физиологических условиях липопероксиды участвуют в клеточном метаболизме и поддержании постоянства внутренней среды организма [130; 167].

Значение ПОЛ:

- 1) модификация биологических мембран, их физиологическое обновление и влияние на проницаемость [33];
- 2) участие в метаболизме оксида азота в норме и патологии [210];
- 3) регуляция окислительного фосфорилирования [45];
- 4) участие в биосинтезе простагландинов, стероидных гормонов, тромбоксанов, лейкотриенов [4];
- 5) контролирование клеточного деления [60; 137];
- 6) участие в обмене холестерина [119; 145; 150];
- 7) участие процессов ПОЛ в воспалении и антимикробной системе фагоцита [71; 197].

1.2. Перекисное окисление липидов и антиокислительная активность при патологии

Контроль клеток за процессами перекисного окисления липидов (ПОЛ) не всегда находится на должном уровне. При экстремальных воздействиях, когда происходит напряжение многих биохимических процессов, регуляция клетками уровня ПОЛ снижается и его интенсивность выходит за пределы нормы [141; 151; 152; 160; 368; 378; 412; 413; 420]. Одной из характеристик патологического состояния организма можно назвать некоторое физиологическое напряжение в работе органов или клеток, которое влечет за собой увеличение повреждающего действия свободных радикалов [419]. Перекисная деструкция липидов — характерная особенность нарушения метаболизма в органах и тканях при патологических состояниях различного генеза [156; 335; 368].

Неконтролируемая активация процессов ПОЛ, как и ослабление антиокислительной защиты (АОЗ), может привести к необратимым повреждениям молекул липидов, белков и нуклеиновых кислот и обусловить развитие синдрома пероксидации, включающего повреждения мембран, инактивацию ферментов, нарушение процессов деления и дифференцировки клеток и накопление инертных биополимеров [20]. Установлено, что малоновый диальдегид (МДА) обладает токсическим действием, способен вызывать дисфункцию митохондрий [304].

Активация ПОЛ при экстремальных воздействиях является типичным процессом в развитии общего адаптационного синдрома [130; 138; 225; 412; 420]. Активация ПОЛ и увеличение количества его продуктов при иммобилизационном стресс-воздействии связано с интенсивностью регенераторных процессов [141; 151; 472; 513]. Было отмечено, что при экспериментальной активации процессов ПОЛ (смесь соли Fe^{2+} с аскорбиновой кислотой) происходит увеличение включения ^3H -тимидина в ДНК миелокариоцитов [142]. Активация ПОЛ в миелокариоцитах на фоне экстремального воздействия занимает существенное место в активации гемопоэза, так как увеличивает доступность кроветворных клеток для гуморальных активаторов гемопоэза и изменяет проницае-

мость мембраны для доступа предшественников синтеза нуклеиновых кислот [128; 243].

Введение в организм животных олеиновой кислоты в окисленном состоянии приводило к ускорению деструкции старых эритроцитов, приводящей к активации регенерации в кроветворной ткани, что дополнительно подтверждает участие процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности (ПОЛ/АОА) в регуляции гемопоэза [154; 190]. Экстремальное воздействие приводит к накоплению продуктов ПОЛ в крови, что способствует усилению эритродиереза и повышенному выходу продуктов, активирующих эритропоэз [75; 115; 207].

В литературе отмечено, что экстремальные воздействия приводят к активации процессов ПОЛ, сопровождающихся серией физико-химических и структурно-функциональных нарушений в мембранах [73; 83; 152; 412]. Кроме того, при изучении многими авторами стресса различной этиологии отмечены явления инактивации АОА и усиления ПОЛ [33; 90; 141; 151; 239; 411; 413].

В условиях травмы и (или) патологии ПОЛ может являться и нежелательным следствием, и пусковым фактором развития осложнений [419]. Показано, что причиной повреждения почек в случае цирроза печени может являться повышение ПОЛ и изменение состава липидов в мембранах клеток тканей почек. При циррозе печени было обнаружено изменение работы митохондрий в почечных тканях, увеличение их размеров и усиления потока ионов кальция через их мембрану [528].

Было выяснено, что в красном костном мозге на ранних сроках (несколько часов) воздействия экстремальных факторов происходит увеличение уровня ПОЛ. При использовании более длительного экстремального воздействия (до нескольких суток) в костном мозге происходит снижение активности ПОЛ за счет роста АОА, при этом усиливается его пролиферативная активность [128; 142; 242; 243].

Перекисное окисление липидов и его продукты приводят к нарушению проницаемости мембран, вызывают разобщение окисления и фосфорилирования в митохондриях, снижают чувствительность рецепторных белков и активность примембранных ферментов [124].

Изменение проницаемости мембран ведет к отеку клеточных структур, в ядерных структурах клетки происходит нарастание ошибок генетического аппарата, в митохондриях из-за разобщения окислительного фосфорилирования нарушается энергетический обмен, что дополнительно усиливает процессы ПОЛ в клетке [157; 169; 212]. Повреждение мембран лизосом, пероксисом, микросом и других везикулярных структур с активными ферментами способствует освобождению этих энзимов и гибели клеток [61; 177].

Усиление ПОЛ в крови человека и животных сопровождается изменением эритроцитарного состава [44; 272]. Действие свободных радикалов изменяет физико-химические свойства мембран, увеличивая их проницаемость, кроме того, окисление белковых компонентов способствует наработке метгемоглобина [444]. Это сопровождается снижением резистентности эритроцитов к повреждающим агентам и свободным радикалам [89; 302]. В литературе отмечена связь между ростом ПОЛ в крови и снижением перекисной и осмотической резистентности в эритроцитах [23; 129; 185].

Обнаружено высокое содержание диеновых конъюгатов и МДА в сыворотке крови больных с острым панкреатитом. Авторы предполагают существенную роль активных форм кислорода в развитии острого панкреатита и предлагают использовать продукты перекисного окисления липидов сыворотки крови для прогноза и оценки тяжести заболевания [20; 415; 413]. Замечено увеличение содержания гидроперекисей в биоптатах печени при неалкогольном стеатогепатите [427]. Подтверждена связь между ослаблением антиокислительной активности, перекисным окислением липидов и рядом кожных заболеваний [252].

Обнаружено обратное отношение между уровнем МДА в плазме крови и продолжительностью заболевания рассеянным склерозом. Также при рассеянном склерозе выявлено уменьшение антиокислительной активности [324].

Значение ПОЛ для развития патологических процессов подтверждается и примерами удачного использования антиоксидантной терапии при лечении патологии [409]. В частности, было показано положительное воздействие комплекса антиоксидантов на больных

с хроническим гепатитом С, подтвержденное гистологическими и биохимическими исследованиями [20; 407]. Предложено лечение таких больных одновременно противовирусной и антиокислительной терапией [407].

Таким образом, установлена связь перекисного окисления липидов с рядом тяжелых заболеваний различной патологии, что может говорить об универсальности механизмов взаимовлияния ПОЛ и патологических процессов [136; 143; 272; 412].

1.3. Возрастные особенности изменения процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности

Старение — это разрушительный процесс, который развивается из-за нарастающего с возрастом повреждения организма внешними и внутренними факторами. Старение приводит к изменению обмена веществ, недостаточности физиологических функций, гибели клеток, ограничению приспособительных возможностей организма, снижению его надежности, развитию возрастной патологии, увеличению вероятности смерти [84; 219; 238].

Несмотря на значительные успехи, достигнутые в изучении проблемы старения, до настоящего времени нет общепринятого представления о сущности физиологических и патологических механизмов данного процесса. Существует около 300 гипотез, объясняющих причины старения [5; 58; 85; 99; 221; 345], которые в той или иной степени пытаются раскрыть основополагающие механизмы этого универсального эндогенного разрушительного процесса, проявляющиеся в повышении вероятности смерти [238].

Свободнорадикальная теория старения [5; 345], наряду с генетической, до сих пор пользуется в научной среде популярностью [53; 58; 94; 461; 469]. Согласно данной гипотезе, одной из важнейших систем организма является система антиоксидантной защиты (АОЗ), обеспечивающая баланс процессов липопероксидации. Именно на изменениях в этой системе и базируются основные механизмы старения. Однако если в здоровом молодом организме система перекисного окисления липидов и антиокислительная активность

(ПОЛ/АОА) полностью сбалансирована и функционирует по принципу обратной связи, то в пожилом возрасте возникает ее дисбаланс [85; 136; 143]. Многие исследователи сходятся во мнении, что одной из главных причин старения является постепенное изменение соотношения прооксидантных и антиоксидантных процессов в организме, а основным виновник этого — митохондриальная дыхательная цепь, участвующая в энергетическом обеспечении клеток, но также и продуцирующая основное количество реакционноспособных радикалов кислорода [5; 33; 36; 66; 73; 142; 185; 246; 291; 295; 437; 461].

С возрастом происходит постепенное увеличение количества продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [7; 10; 172; 209; 241; 345; 458] и уменьшение антиокислительной активности (АОА) в основном ферментативного типа [5; 29; 96; 148; 440; 470]. Этим процессам многие авторы приписывают главную роль в старении человека и животных [151; 152]. Основными причинами, уменьшающими ферментативную АОА, являются снижение генетического контроля над синтезом антиокислительных энзимов и накопление повреждений в генах, кодирующих эти белки [149; 510]. Кроме того, с возрастом может появляться дефицит в антиоксидантах не ферментативной природы (витамины А, Е, С).

Отмечено, что при старении происходит увеличение повреждающего действия ПОЛ и его продуктов [100; 108; 126; 207; 230; 256; 351]. Это приводит к накоплению неспецифических модификаций белков и ферментов, увеличению проницаемости и текучести мембран, росту повреждения в клеточных компартментах, к повреждению митохондрий и электрон-транспортному дисбалансу [13; 162; 177; 345]. В ряде литературных источников показано, что с возрастом происходит нарастание в белковых единицах количества дисульфидных связей и увеличение в сыворотке крови количества окисленных белков, вызванных повышенной интенсивностью процессов ПОЛ [66; 82; 162].

При старении в результате гипоксии вследствие развития сердечной и дыхательной недостаточности тормозится цикл Кребса, что приводит к активации анаэробного гликолиза, энергодефициту и снижению адаптивных механизмов [41; 98].

Энергодефицит приводит к нехватке восстановленных эквивалентов и к смещению баланса в системе ПОЛ/АОА в сторону ПОЛ [14]. Усиление липопероксидации повышает вероятность нарушения работы белков и генетического аппарата [66; 230; 421; 493; 511]. Исследователи отмечают возрастное повышение содержания оснований Шиффа как в ядерном, так и в митохондриальном генетическом аппарате, причем в митохондриях этот процесс идет активнее и сопровождается снижением количества синтезируемого белка. В ядрах, в свою очередь, отмечено снижение активно-транскрибируемого хроматина [149; 288; 465].

Современное развитие свободнорадикальной теории старения связано с исследованиями работы митохондрий как основного источника свободных радикалов. Возрастное нарушение работы митохондрий (в том числе вследствие накопления мутаций ДНК) может быть причиной патологического старения клетки в целом при посредстве увеличения ПОЛ [5; 149].

Однако более ранние исследования показывают, что проблема первопричины старения клетки не ограничивается только митохондриями, но может иметь и другие корни. Так, сравнивалось ПОЛ и действие антиокислительных ферментов в митохондриальной и цитозольной субклеточных фракциях печени обычных и ускоренно стареющих мышей в разном возрасте. С возрастом отличие в уровне ПОЛ между мышами обеих групп увеличивается. Обнаружена следующая последовательность:

- 1) снижение антиокислительной защиты в цитозоле;
- 2) повышение ПОЛ в цитозоле;
- 3) нарушение транспорта ряда веществ в митохондрии (например, ионов меди);
- 4) снижение антиокислительной защиты митохондрий.

Данную последовательность авторы рассматривают как один из факторов ускоренного старения [257; 259; 412]. Таким образом, митохондрии могут и не быть первопричиной процессов старения клетки, либо механизм их участия более сложен.

Процессы приспособления организма к возрастным изменениям (витаукт) затрудняют реальную оценку механизмов старения [186; 219; 221]. Показан пример витаукта в митохондриальных

и цитозольных фракциях животных разного возраста: накопление пероксидов увеличивается при старении, но окисляются быстрее липиды молодых животных [517]. Также отмечено, что организм зрелых и старых животных по-разному реагирует на стрессы кровопотери и облучения [52; 245].

Общий анализ данных об участии активных форм кислорода (АФК) в процессах старения и сопровождающих его заболеваний позволяет ряду авторов утверждать, что повреждение макромолекул под действием АФК приводит к мутациям, нестабильности генома и развитию ряда возрастных патологий, таких как рак, сердечно-сосудистые заболевания, возрастные иммунодепрессии, дисфункции мозга, катаракты и др. [5; 10; 48; 50; 95; 136; 143; 148; 149; 212; 272; 413].

В настоящее время осуществляется поиск биохимических предикторов старения в периферической крови, что будет способствовать более глубокому пониманию механизмов старения и позволит ввести в практику раннюю диагностику возрастных изменений [308; 388; 467].

Таким образом, процессы ПОЛ и процессы старения взаимосвязаны, что особенно заметно в условиях старческих патологий, в условиях стресса или гипоксии [409; 419]. Представляется целесообразным изучать связь ПОЛ и старения на субклеточном уровне, рассматривая взаимодействие различных клеточных элементов, особенно отмечая роль митохондрии.

1.3.1. Изменения в печени животных и человека

Известно, что уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) в различных тканях и органах при экстремальном воздействии и старении активируется с различной силой и интенсивностью [122; 486]. С возрастом в печени старых крыс наблюдается повышенный уровень ПОЛ [64; 90; 525] и сниженное количество аскорбиновой кислоты [81; 456]. При исследовании старения на экспериментальных животных отмечалось увеличение липопероксидации в скелетных мышцах, селезенке, гипофизе и эритроцитах; отсутствие изменений — в почках и коре головного мозга и уменьшение — в сердце, надпочечниках и легких [100; 108; 231].

Нарушение сбалансированного взаимодействия про- и антиоксидантных процессов при старении играет важную роль как в прогрессировании возрастных изменений, так и в развитии возраст-зависимой патологии, в том числе патологии печени [86; 98; 260; 413].

Установлено, что с возрастом в печени крыс интенсивность электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) сигналов свободных радикалов, их производных и железосерных комплексов существенно не меняется. Однако увеличивается интенсивность ЭПР сигналов комплексов, содержащих Mn^{2+} и цитохром P_{450} (последнее авторы связывают со значительным снижением активности супероксиддисмутазы). Предполагается, что накопление продуктов ПОЛ в печени связано, в основном, с возрастным снижением активности системы антиокислительной защиты клетки [328].

Обнаружено, что постмитотические ткани (такие как сердечная и скелетная мышечная мускулатура) более склонны к окислительному стрессу при старении, нежели митотические ткани (печень) [425].

Высокая устойчивость к оксидативному стрессу выступает в роли одного из факторов, предопределяющих уникальное свойство этого органа сохранять высокую функциональную активность вплоть до позднего онтогенеза. Множество окислительно-восстановительных реакций, протекающих в печени в норме, требуют мощную систему подавления избыточного свободнорадикального окисления [343].

Известно, что продукты перекисного окисления липидов оказывают разобщающее действие на митохондрии, снижая энергетические возможности организма [530]. Однако исследования с использованием антиоксидантов не выявили изменений в энергетическом обеспечении печени как взрослых, так и старых крыс в условиях стресса. Из этого был сделан вывод о том, что стрессорная стимуляция свободнорадикальных процессов не оказывает существенного влияния на скорость окислительного фосфорилирования в митохондриях печени [55].

Более того, у старых крыс, в отличие от зрелых животных, стимуляция гликолиза при стрессе сопровождается поддержанием эффективного катаболизма пировиноградной кислоты в реакции окислительного декарбоксилирования и повышением использования

глюкозы в пентозофосфатном пути. Подобная перестройка в углеводном обмене способствует повышению эффективности метаболической адаптации в клетках печени. За счет нее, с одной стороны, формируется возможность для стабилизации уровня аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) в гепатоцитах, с другой — возникают условия для уменьшения концентрации молочной кислоты и повышения синтеза, восстановленного НАДФ, необходимого для обеспечения функционирования антиоксидантной системы печени в условиях стимуляции свободнорадикальных процессов при стрессе. Эти данные позволили некоторым авторам утверждать, что в позднем онтогенезе формируется более совершенная система регуляции метаболических процессов, чем на ранних его этапах [55; 86].

И в то же время известно, что с возрастом происходит снижение мощности антиоксидантной системы печени [86]. Также установлены возрастные изменения активности альдегидредуктазы и альдегиддегидрогеназы в печени при иммобилизационном стрессе, вследствие чего тормозится использование эндогенных альдегидов в окислительно-восстановительных превращениях у старых, 24-месячных крыс [5; 10; 43]. Вместе с указанным ранее снижением активности супероксиддисмутазы [328] торможение использования эндогенных альдегидов может позволить нам объяснить снижение мощности антиоксидантной системы печени при старении общим снижением активности ферментов, участвующих в окислительно-восстановительных реакциях.

Снижение мощности антиоксидантной системы на фоне нарушения мембранных электрон-транспортных цепей при старении способствует усилению радикалообразования в митохондриях и микросомах [339].

Для борьбы с возрастным повышением ПОЛ предлагался, например, метод ограничения калорийности питания [86]. Так, ранее было выяснено, что ограничение калорийности питания уменьшает возрастные изменения в антиокислительной системе цитоплазматической мембраны в печени крысы [301]. Известно, что низкокалорийная диета увеличивает продолжительность жизни лабораторных мышей [485]. Существует теория, согласно которой механизмом уве-

личения жизни мышей является снижение энергетического обмена и, как результат, снижение производства активных форм кислорода. Обнаружено закономерное снижение массы тела и органов подопытных животных, выращенных на низкокалорийной диете. Но биохимические показатели энергетического обмена (производство сукцината, малат-аспартатный коэффициент и ряд других), а также уровень образования активных форм кислорода остались неизменными. Единственным результатом было повышение содержания полиненасыщенных жирных кислот в митохондриальной фракции печени, однако, не сказавшееся на ПОЛ и функциях митохондрий [450]. Совместное воздействие упражнений и ограничение калорийности питания снижают содержание активных форм кислорода в цитозольной фракции печени крыс, но не влияют на митохондриальную фракцию. Причиной снижения ПОЛ признано повышение антиокислительной активности, как ферментативной (каталаза и глутатион-пероксидаза), так и не ферментативной [258]. Однако в литературе также упоминается, что значительное ограничение в калорийности питания может способствовать увеличению интенсивности процессов ПОЛ в печени крыс [489].

При старении возрастает вероятность возникновения оксидативного стресса в печени крыс при иммобилизации, объясняемая возрастным снижением антиоксидантной системы печени. В печени зрелых и старых крыс поддерживается высокая эффективность функционирования метаболических систем, утилизирующих продукты ПОЛ. За счет этого у животных обеих возрастных групп возникают предпосылки для ограничения проявлений негативного эффекта накопления продуктов ПОЛ на гепатоциты. Вместе с тем, у старых крыс стимуляция ПОЛ в клетках печени при иммобилизации, по всей вероятности, происходит в условиях ограничения мощности антиоксидантной системы [98; 328]. В связи с этим у них возрастает риск проявления негативных эффектов оксидативного стресса на гепатоциты. Следствием этого становится формирование своеобразного состояния «напряжения» в механизмах адаптации печени к действию повреждающих факторов внешней среды, что вносит определенный вклад в снижение устойчивости организма к стрессу при старении [5; 55].

Печень устойчива к последствиям стресса, связанным с ПОЛ, однако и в ней с возрастом нормальный баланс системы ПОЛ/АОА нарушается, и причиной тому может быть возрастное снижение активности ряда оксидоредуктаз.

1.3.2. Изменения в системе крови животных и человека

Многие исследователи отмечают наличие изменений в системе «перекисное окисление липидов и антиокислительная активность» (ПОЛ/АОА) периферической крови при старении, в основном, имеет место активация процессов ПОЛ [106; 192; 222; 398; 272] и снижение ферментативной и не ферментативной АОА [1; 26; 89; 312]. В эритроцитах старых животных в большей степени представлены продукты ПОЛ, увеличено содержание малонового диальдегида, количество гидроперекисей фосфолипидов и диеновых конъюгатов [89; 247; 256].

С увеличением возраста в эритроцитах наблюдается снижение активности ферментативной АОА, происходит уменьшение активности каталазы, супероксиддисмутазы и группы ферментов, метаболизирующих глутатион [155], снижается количество восстановленной формы глутатиона и увеличивается — окисленной. Также в старых эритроцитах снижается резерв не ферментативной АОА, наблюдается уменьшение содержания α -токоферола [81; 228] и церулоплазмينا [62].

Однако в современных литературных источниках имеет место противоположная точка зрения, в которой отмечается отсутствие значимых изменений показателей ПОЛ в системе крови при старении [254]. Ряд авторов указывают на достоверное снижение интенсивности процессов ПОЛ с увеличением возраста, возможно, связанное с изменением жирнокислотного состава мембран [309]. Возрастные изменения системы АОА, так же неоднозначны, как и изменения в системе ПОЛ. Отдельные авторы обнаружили повышение ряда параметров АОА в периферической крови при старении [90; 181; 272; 309].

При постановке экспериментов с ускоренным старением на животных было показано, что ПОЛ ускоряет процессы ста-

рения в организме [6; 28; 410], а применение антиоксидантов вызывало замедление развития старения [94; 136; 143; 161; 238; 356]. Воздействие антиоксидантов приводит к изменению физико-химических свойств мембран с увеличением ненасыщенности и текучести липидов, а также влияет на активность мембранных рецепторов и околочелюстных ферментов. Длительное воздействие антиоксидантами способно замедлять физиологическое старение, процессы метилирования и накопление повреждений в ДНК, предотвращать появление повреждений в генетическом аппарате продуктами ПОЛ. Антиоксиданты обладают способностью подавлять процесс миграции и пролиферации стволовых кроветворных клеток [147; 178; 188]. Таким образом, введение антиоксидантов вызывает снижение уровня ПОЛ как в отдельных органах, так и в организме в целом, что в итоге приводит к увеличению продолжительности жизни и замедлению старения [136; 143].

1.4. Изменения в клеточных и субклеточных структурах печени при активации регенераторных процессов

Отмечено снижение с возрастом относительного объема печени как органа, скорости кровотока, метаболической активности и клиренса вводимых лекарств [247; 527]. В литературе имеются сведения о снижении при старении функциональной активности печени по показателям ферментативных систем, что может быть связано с накоплением структурных повреждений в ДНК гепатоцитов в результате снижения с возрастом эффективности антиокислительной защиты (АОЗ) и увеличения уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) [86]. При физиологическом старении в печеночных клетках отмечается снижение содержания АТФ, креатинфосфата, белоксинтезирующей функции [411], угнетение антиоксидантной функции [86].

Снижение с возрастом диапазона компенсаторно-приспособительных возможностей систем энергообразования и биосинтеза белка делает старых животных более чувствительными к воздействию экстремальных факторов [262; 404].

Известно, что в процессе нормального постнатального развития печень крыс существенно меняется в цитологическом отношении:

уменьшается количество митозов, число печеночных клеток с диплоидными ядрами резко снижается, замещаясь гипертрофированными, гигантскими клетками, содержащими тетра- и октаплоидные ядра [287; 371]. В результате гепатэктомии у старых крыс более выражена гипертрофия и увеличение плоидности гепатоцитов, повышение количества двуядерных клеток и числа патологических митозов, чем у зрелых. В регенерирующей печени старых животных вышеописанные структурные преобразования хроматина более выражены [223; 371].

Таким образом, в литературе имеются сведения об ослаблении активности многих функций печени при старении. Отмечено уменьшение антитоксической, антиокислительной, синтетической функций, развитие энергодифицита в клетках на фоне активации ПОЛ.

1.4.1. Изменения интенсивности процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности

Относительно недавно было произведено сравнение активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) при 70% гепатэктомии в нормальной и цирротической печени. В нормальной печени при гепатэктомии не обнаружено существенных изменений ПОЛ, тогда как в цирротической печени при гепатэктомии ПОЛ достоверно повышается [348]. Дальнейшие исследования другой группой ученых нормальной и цирротической печени после гепатэктомии показали, что активация ПОЛ в цирротической печени в процессе регенерации вызвана снижением антиокислительной активности, при этом снижалась активность глутатион-пероксидазы в митохондриях, и как следствие — количество восстановленного глутатиона [428; 526]. Также было проведено гистохимическое исследование, подтверждающее, что ПОЛ увеличивает полиплоидизацию клеток печени при регенерации после гепатэктомии и тем самым снижает пролиферативный потенциал регенерирующей ткани [332; 507].

Таким образом, в процессе регенерации в системе ПОЛ/АОА печени возникает преобладание прооксидантных факторов, а несостоятельность антиокислительной защиты (АОЗ) отрицательно сказывается на самих регенераторных процессах.

Однако есть данные, указывающие на более сложный механизм взаимодействия ПОЛ и процессов регенерации. Например, при регенерации в условиях частичной гепатэктомии выявлена взаимосвязь стадий митотического цикла и уровня ПОЛ в мембранах ядерной фракции регенерирующей печени [476]. Так, синтез ДНК протекает при снижении уровня ПОЛ в 2 раза, а стадия максимума митозов соответствует повышению уровня ПОЛ в мембранах ядерной фракции в 4–5 раз по сравнению с контролем. Весь процесс регенерации протекает на фоне снижения уровня ПОЛ в митохондриальной и микросомальной фракции [30]. На основании полученных данных авторы делают предположение о роли активных форм кислорода в активации генной экспрессии и в обновлении ядерных мембран и о роли ферментов-антиоксидантов (например, супероксиддисмутазы) в регуляции пролиферации. Эти же данные подтверждены и более поздними исследованиями, причем источником активных форм кислорода называются именно митохондрии [292; 435; 479].

Морфологические изменения и последовательность клеточных реакций в печени, регенерирующей после повреждения нитратом свинца, в целом соответствуют характеру и последовательности событий, происходящих при регенерации, вызванной частичной гепатэктомией. Однократные инъекции крысам нитрата свинца вызывают усиление ПОЛ клеточных мембран, что является основным повреждающим фактором. В ходе регенерации печени после инъекции нитрата свинца наблюдается синхронизированная волна пролиферации гепатоцитов, и пролиферативная активность достигает максимума через 48 часов [54; 475]. Автор непосредственно указывает на то, что усиление ПОЛ являлось синхронизирующим фактором пролиферации гепатоцитов.

Разрушая мембраны, процессы ПОЛ логично противопоставляются процессам регенерации. Вышеприведенные факты позволяют предположить наличие ряда тонких механизмов взаимодействия между ПОЛ и регенерацией.

Одним из центральных положений геронтологии является утверждение, что с увеличением календарного возраста уменьшается способность организма адаптироваться к многообразным факторам среды [5; 142; 149; 219; 220; 221]. Угнетение функций внутренних

органов и ограничение их адаптивных возможностей является характерной чертой стареющего организма [6; 10; 48; 75]. Это проявляется и в снижении способности к регенерации различных органов и тканей с возрастом [54; 85; 95; 238; 246]. Регенерационная способность может рассматриваться как частный случай адаптации.

Нормализация структуры и функции печени осуществляется сочетанием клеточной и внутриклеточной форм регенерации, т.е. как посредством новообразования гепатоцитов, так и путем изменения ультраструктуры уже имеющихся клеток [369; 442].

У старых животных регенерация сопутствует образованию ядер более высокой ploидности [22; 195; 332; 343]. В то же время, по мере увеличения ploидности гепатоцитов их способность к делению резко снижается, при этом прирост массы регенерирующей печени у старых животных осуществляется не за счет деления гепатоцитов, а преимущественно за счет их гипертрофии, т.е. увеличения числа и активности органелл [54; 195; 223].

Было высказано предположение о том, что способность печени к регенерации с возрастом не снижается, а происходит смена стратегии сохранения гомеостаза в организме. У молодых животных — пролиферативная стратегия (т.е. преобладание процессов пролиферации над процессами усиления метаболизма). У старых животных — стратегия интенсификации метаболизма (т.е. преобладания процессов ускорения метаболизма над пролиферативными процессами). При выборе такой стратегии наблюдается большая активность энергетических систем старых животных на ранних этапах регенерации [17]. По мнению авторов, не следует однозначно низко оценивать интенсификацию метаболизма у старых животных по сравнению с пролиферативной стратегией регенерации молодых животных. Для старых животных такая стратегия, вероятно, предпочтительна и для выполнения гомеостатических функций вполне достаточна. Авторы отмечают, что у этих двух стратегий могут быть различные следствия, которые и будут приводить к формированию различных «перспектив» в сохранении гомеостаза организма в дальнейшем.

Одним из следствий интенсификации метаболизма в регенерирующей печени у старых животных может стать высокий уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ). Одновременно с этим, как

отмечено выше, у старых животных происходит снижение пролиферативной активности регенерирующей ткани.

Исследование особенностей и механизмов регенерации у животных разных возрастных групп является удобным экспериментальным подходом не только в решении проблем геронтологии, но и фундаментальных проблем биологии, таких как проблемы адаптации, регуляции пролиферации, биогенеза клеточных органелл [275; 336].

Особый интерес в этом отношении представляет исследование органелл клеточных фракций, например митохондрий. Участие митохондрий в механизмах старения организма можно рассматривать в трех аспектах: митохондрии как источники свободных радикалов [212; 255; 345], как индукторы апоптоза [341; 483] и как мишень мутационных изменений митохондриального генома продуктами свободнорадикального окисления липидов [39; 278; 449]. Во всех трех случаях центральным звеном выступает ПОЛ [114; 212], что обуславливает наш интерес именно к показателям ПОЛ в митохондриальной субклеточной фракции в эксперименте.

Избыточная активация ПОЛ нарушает все функции мембран: наблюдается снижение трансмембранного потенциала в митохондриях, изменение степени олигомеризации мембранных белков, нарушается взаимодействие белков и липидов [33; 114].

Согласно современным представлениям, изменения в митохондриях играют одну из ключевых ролей в старении клеток [322; 448; 496]. Установлена связь между видовой продолжительностью жизни и содержанием активных форм кислорода в ядрах и митохондриях клеток [322; 448]. Характерный признак старения клетки — изменение митохондрий: просветление матрикса, расширение межкristных промежутков, набухание, повреждение их внутренней и наружной мембраны. Общий объем митохондрий в клетке при старении увеличивается, однако сопровождается снижением площади мембран в каждой отдельной митохондрии. Происходит уменьшение функциональной активности митохондрий, скорости потребления O_2 и синтеза АТФ. Увеличение размеров митохондрий, вплоть до появления гигантских митохондрий, можно расценивать как проявление витаукта [108; 210]. Таким образом, в процессе онтогенеза в клетках изменяется как морфология и относительное количество митохондрий,

так и их качество, определяемое, прежде всего, их способностью осуществлять функцию преобразования энергии. Дисбаланс в генерации активных форм кислорода и энергетическом метаболизме может становиться и причиной, и следствием старения [448; 449].

Относительно недавно была предложена гипотеза митохондриального оксидативного стресса [512; 519; 532]. Окисление липидных молекул под действием активных форм кислорода приводит к необратимому изменению или повреждению мембранных структур, нарушению их проницаемости для ионов [114; 322; 448; 496].

Повреждение мембранных структур может быть причиной изменения морфологии и нарушения функций митохондрий. Нарастающее



Рис. 1. Развитие процесса нарушения работы митохондрий по данным Колосовой Н.Г., 2001 [93]. Процесс самоускоряется под влиянием продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) на энергетический обмен (оксидативный стресс митохондрий)

нарушение функций митохондрий ведет к развитию дефицита энергии, в условиях которого баланс в системе про- и антиоксидантов в тканях сдвигается в пользу первых и развивается оксидативный стресс (рис. 1) [93; 114].

В исследованиях на трех линиях мышей показано, что известный митохондриальный антиоксидант SkQ10, так называемый ион Скулачёва — положительно заряженный комплексообразователь для транспорта антиоксидантов внутрь митохондрий, — не эффективен в качестве геропротектора и значит, не оказывает влияния на старение и продолжительность жизни экспериментальных животных [240].

Таким образом, представляет интерес динамика функциональной активности самой системы перекисного окисления липидов и антиокислительной активности (ПОЛ/АОА) митохондрий, в частности, в регенерирующей печени крыс разного возраста.

1.4.2. Особенности участия фосфолипидов в клеточной и субклеточной регенерации печени

В основе как репаративного, предмитотического, так и гипертрофического цитоморфоза лежит новообразование, рост и гипертрофия органелл, т.е. внутриклеточная регенерация [183]. Внутриклеточная регенерация выражается в виде восстановления и гиперплазии органелл, которые подвержены повышенной функциональной нагрузке в результате гибели других клеток (или при гепатэктомии).

При восстановлении непрерывности мембран поврежденных органелл (митохондрий, цитоплазматической сети), а также плазмолеммы, имеет место «репаративный мембраногенез», а при увеличении протяженности мембран органелл, т.е. при их гипертрофии, наблюдается «гипертрофический мембраногенез». Поэтому в качестве элементарной формы проявления репаративной регенерации на субклеточном уровне необходимо рассматривать мембраногенез [183].

Общеизвестно, что липидам принадлежит главная роль в образовании мембран клеток и клеточных структур. Основная часть липидов в мембранах представлена фосфолипидами. Фосфолипиды влияют на проницаемость и другие формы биологической активности клеточных мембран [114; 300; 390].

Японскими исследователями экспериментально доказано положительное влияние вводимого в кровь гепатэктомированных животных этаноламина на регенераторные процессы. Была показана корреляция между количеством вводимого этаноламина и скоростью регенерации печени. Таким образом, они подтвердили на практике важность метаболизма фосфолипидов для регенерации [381; 382].

В литературе отмечена способность фосфолипидов к перераспределению между субклеточными фракциями под действием пролиферационных стимулов [114; 251; 314; 381]. Также отмечено участие фосфолипидов в прикреплении вновь синтезированных ДНК и РНК к ядерному матриксу, что позволило рассматривать их в качестве фактора передачи сигнала для сборки и последующего разрушения репликативных и транскрипционных комплексов [381].

Другим исследователем также подтверждается, что изменение липидного состава в клетке может привести к изменению структурной и функциональной активности ее генетического аппарата. Изменение состава фосфолипидов в ядрах клеток в различных фазах клеточного цикла коррелирует с уровнем антиокислительных свойств липидов, что находит отражение в структурной перестройке ядерной мембраны. При подготовке к синтезу ДНК в клетках печени после ее частичной гепатэктомии уровень антиокислительной активности липидов ядер резко возрастает, затем при переходе клеток в фазу S уменьшается до нулевых значений, указывающих на ускорение окислительного процесса, и вновь постепенно возрастает по мере завершения фазы синтеза ДНК [251; 381].

Липолитические ферменты, влияя на метаболизм липидов, и, в частности, фосфолипидов, а через них и на генетический аппарат клетки, являются инструментом, регулирующим синтез белка, изменение содержания ферментов при регенерации. Фосфолипазы являются одними из первых ферментов, которые активируются в результате клеточной пролиферации [314; 381].

Таким образом, процессы регенерации на биохимическом уровне невозможно изучать, не учитывая особенности липидного обмена.

На примере повреждения митохондрий клеток при гипоксии, а также изменений свойств митохондрий, клеток крови и искус-

ственных фосфолипидных мембран было показано, что в основе нарушения барьерных свойств липидного слоя мембран (и мембран в целом) лежат четыре причины:

- 1) перекисное окисление липидов;
- 2) действие мембранных фосфолипаз;
- 3) механическое растяжение мембран;
- 4) адсорбция полиэлектролитов.

Действие каждого из этих факторов может быть специфическим. Так, перекисное окисление вызывает избирательную проницаемость мембран для ионов H^+ (или OH^-) и ионов Ca^{2+} . Фосфолипазы вызывают появление в мембране каналов для катионов, таких как K^+ [32; 33]. При этом автор обращает внимание на цепь событий:

1) гипоксия либо другая причина нарушения снабжения клетки энергией;

2) нарушение работы кальциевой помпы либо случайное образование открытых кальциевых каналов;

3) избыточная активация фосфолипазы A_2 ионами кальция и дальнейшее нарушение ею барьерных свойств липидного бислоя, что вызывает еще больший рост уровня кальция в цитоплазме. Образуется своеобразный порочный круг (рис. 2);

4) набухание и гибель митохондрии, а после — самой клетки.

Также автор допускает роль перекисного окисления липидов (ПОЛ) в нарушении работы кальциевой помпы [32; 33]. Кроме того, продукты ПОЛ обладают способностью непосредственно увеличивать ионную проницаемость липидного слоя, в том числе и для ионов кальция [114].

Таким образом, первоначальным повреждающим агентом, обеспечивающим выход в цитоплазму кальция, может являться перекисное окисление липидов, и деятельность фосфолипазы A_2 рассматривается как основное разрушительное следствие (рис. 2). Столь же отрицательной роль активной фосфолипазы A_2 будет, вероятно, и при регенераторных процессах, когда только что синтезированные мембраны новых органелл клетки будут подвергаться ее разрушительному действию.

В то же время известно, что гидролиз окисленных фосфолипидов под действием фосфолипазы A_2 происходит значительно быстрее,

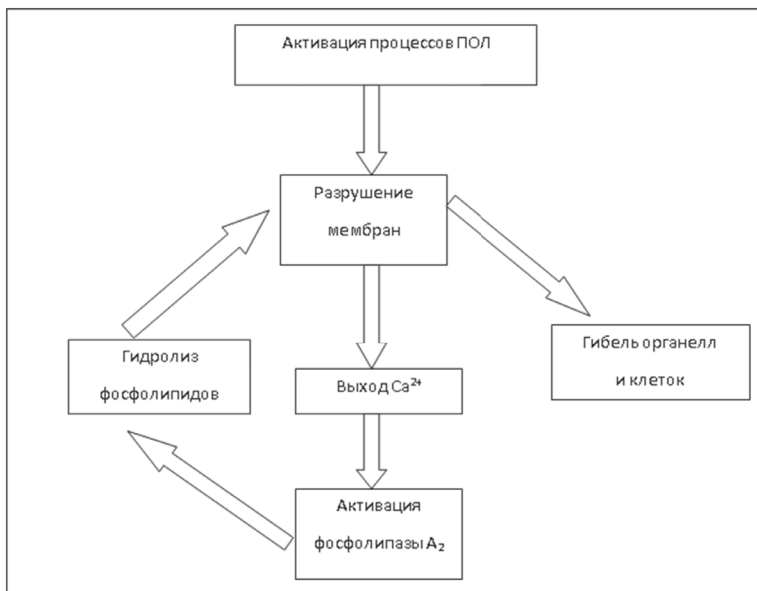


Рис. 2. Схема участия фосфолипазы A2 в ускорении разрушения мембран органелл по Владимирову Ю. А. (2000) [32; 33]

чем в случае неокисленных молекул [77; 377; 399]. Более того, подтверждена способность фосфолипазы A2 проявлять активность при наличии продуктов ПОЛ даже при отсутствии Ca^{2+} [114; 205]. Фермент выборочно удаляет из субстратной среды уже окисленные молекулы, способные инициировать дальнейшие процессы ПОЛ.

Таким образом, фосфолипаза A2 способна выполнять двойственную роль — антиоксиданта, препятствуя развитию процессов ПОЛ [10; 11; 12], и фактора дестабилизации клеточных мембран, приводящих к гибели клетки. Процессы ПОЛ активируют фосфолипазу, которая до определенного предела будет сдерживать процессы ПОЛ, вероятно, до тех пор, пока синтез фосфолипидов не отстает от их катаболизма. Если катаболизм фосфолипидов будет превышать их синтез, то целостность мембраны нарушится и развитие событий пойдет по пути, описанному Ю. А. Владимировым, и органелла, а за ней, возможно, и вся клетка погибнут [32; 33].

Возможно, именно способность регулировать активность фосфолипазы A_2 непосредственно продуктами ПОЛ обуславливает влияние процессов ПОЛ на пролиферативные процессы при регенерации. Ее роль для клетки неоднозначна, и ее влияние на метаболизм фосфолипидов, особенно в процессах регенерации, требует изучения.

1.5. Цитоэфektorные и антиоксидантно-прооксидантные свойства адренергической и холинэргической систем

В настоящее время активно изучаются нарушения клеточного обмена при заболеваниях человека, поэтому актуальность приобретают исследования регуляции ключевых процессов, происходящих на субклеточном уровне, например в митохондриях. Установлено, что активация и торможение митохондриальных функций может производиться напрямую адреналином и ацетилхолином. Доказано, что адреналин избирательно активирует окисление сукцината и тормозит окисление α -кетоглутарата, а ацетилхолин оказывает противоположный эффект, что подтверждается и клиническими наблюдениями [41]. Активность митохондрий в организме регулируется пульсациями уровня этих медиаторов. Исследования с использованием адреноблокаторов показало предотвращение изменения параметров клеточного энергообмена при иммобилизационном стрессе [47; 57; 242; 244; 285].

Действие адреналина приводит к активации катаболизма углеводов и липидов, т.е. увеличивает количество энергетических субстратов. Однако введение стрессорной дозы адреналина в течение продолжительного времени в митохондриях печени приводит к уменьшению эффективности окислительного фосфорилирования и активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [138; 187].

Под влиянием ацетилхолина происходит увеличение кальциевой емкости митохондрий. Поскольку кальциевая емкость митохондрий коррелирует с количеством субстратов цикла Кребса, по такому косвенному признаку можно судить об активации процессов дыхания и фосфорилирования [47; 395].

Решающим сигналом к торможению митохондрий является, по-видимому, устранение адреналина моноаминоксидазой и выделение ацетилхолина, который, активируя окисление α -кетоглутарата, дополнительно тормозит окисление сукцината [47; 187; 431]. Активация ацетилхолином окисления α -кетоглутарата обусловлена усилением его притока через аспаратаминотрансферазу [47; 57; 187; 431]. Как выяснилось, при этом снижается содержание оксалоацетата и его ингибирующее действие на сукцинатдегидрогеназу [187]. Также обнаружено, что α -кетоглутарат непосредственно тормозит окисление сукцината, и, возможно, его накопление является еще одним механизмом влияния ацетилхолина на сукцинатдегидрогеназу [187; 431].

В то же время обнаружено, что взаимоотношения между симпатической и парасимпатической нервными системами являются более сложными, чем просто антагонизм [41; 138]. Показана специфичность действия адреналина и ацетилхолина через рецепторы. Результаты опытов показали, что введение ацетилхолина приводит к активации скорости АДФ-стимулируемого дыхания при окислении α -кетоглутарата по сравнению с митохондриями контрольных животных. Введение медиатора на фоне предварительной инъекции норадреналина приводит к почти трехкратному увеличению эффекта действия ацетилхолина [187; 431]. Выявлено активирующее влияние ацетилхолина на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях сердца и печени при окислении α -кетоглутарата [47; 395]. Таким образом, оптимизация дыхания наблюдалась только при сочетанном действии ацетилхолина и катехоламинов [47; 57; 187].

При старении в крови обнаружено избыточное количество катехоламинов, что объясняется снижением чувствительности к ним и снижением скорости их разрушения [41]. Кроме того, утверждается, что при уменьшении иннервации тканей при старении непосредственное быстрое нервное управление деятельностью органов и систем со стороны симпатического отдела нервной системы и ее адаптационно-трофические воздействия заменяются медленным и менее целенаправленным гормональным способом регулирования [46; 229].

Несколько иная картина действия ацетилхолина наблюдается у старых животных. В состоянии покоя активность холинацилтрансферазы, как и содержание в ткани ацетилхолина, и у молодых, и у старых животных приблизительно одинакова. Однако в условиях стресса у молодых животных уровень ацетилхолина и активность холинацилтрансферазы выше [121].

Вместе с тем, давно известно влияние ацетилхолина и адреналина на регенераторные процессы. В первые дни после частичной гепатэктомии в регенерирующей печени резко уменьшаются запасы гликогена [447]. Уменьшение содержания гликогена в печени предшествует максимуму синтеза ДНК. Эти факты позволяют считать, что выделяющаяся при распаде гликогена энергия способствует регенерации [114]. Гликогенолиз легко вызывается адреналином и глюкагоном. Получены данные о стимуляции процессов пролиферации в регенерирующей печени при воздействии адреналином. Исследование с помощью изотопа фосфора P^{32} показало значительное возрастание включений изотопа в состав фосфатидной кислоты цитоплазматических фракций в присутствии ацетилхолина. Следовательно, ацетилхолин активирует синтез фосфолипидов в мембранах, и, таким образом, он также принимает непосредственное участие в регуляции процессов регенерации.

Отмеченное выше требует нашего внимания к ацетилхолину и адреналину как к регуляторам внутриклеточного обмена и функций митохондрий, способным повлиять и на процессы регенерации, и на процессы ПОЛ.

1.5.1. Участие адренергической системы в стресс-реакции и регуляции регенераторных процессов

Катехоламины, в том числе адреналин, синтезируются в мозговом веществе надпочечников и нервной ткани из тирозина. Последовательность реакций:

- 1) гидроксилирование тирозина до диоксифенилаланина;
- 2) декарбоксилирование диоксифенилаланина до дофамина;
- 3) гидроксилирование дофамина до норадреналина.

Гидроксилирование тирозина является этапом биосинтеза, ограничивающим его скорость. Адреналин образуется в результате N-метилирования норадреналина в мозговом слое надпочечников.

Основными метаболитами катехоламинов являются 3-метокси-4-гидрокси-ванилилминдальная кислота (из норадреналина и адреналина) и гомованилиновая кислота из дофамина. Катехоламины депонируются в секреторных пузырьках мозгового слоя надпочечников и окончаниях симпатических нервов и высвобождаются при деполаризации клеток.

Катехоламины в норме обладают антиоксидантной активностью [396], являясь своеобразными «ловушками» свободных радикалов и активируя ряд антиоксидантных ферментов. В частности, показано, что ряд катехоламинов, включая адреналин и дофамин, оказывают антиоксидантное действие при вызванной активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) в ткани мозга [138; 170; 396; 477], причем этот эффект является прямым, а не опосредованным через нейротрансмиссию.

В экспериментальной модели иммобилизационного стресс-воздействия в ряде органов и тканей было выявлено существенное повышение концентрации норадреналина [242; 362; 365; 477]. Системное действие катехоламинов вызывает патологическую вазоконстрикцию с развитием ишемии, повышением текучести мембран клеток и последующей активацией ПОЛ [53; 100]. Одним из механизмов действия катехоламинов может быть аутоокисление адреналина в ходе его избыточной и продолжительной выработки, что связано с истощением систем его деградации (моноаминоксигеназного и катехол-О-метилтрансферазного пути), при этом сама молекула катехоламина становится источником свободных радикалов [224; 290; 363; 432]. Катехоламины как гормоны являются одним из основных активаторов усиленного метаболического ответа центральной нервной системы (ЦНС) на повреждение ткани мозга, реализующие свой эффект при воздействии на адренорецепторы мозга через аденилатциклазный механизм, приводя к образованию циклического АМФ из АТФ [313; 375; 416].

Установлено, что при иммобилизационном стрессе или электрошоковом повреждении активация симпатoadреналовой системы

более выражена, нежели при эмоциональных видах стресс-реакции, что сопровождается более генерализованным выбросом катехоламинов в ЦНС [283; 376].

Повышение уровня норадреналина в подкорковых структурах головного мозга изменяет психофизиологическую реакцию при стрессе (повышение тревожности и депрессии) [276]. Катехоламины при хроническом стрессе ингибируют продукцию антител, однако данный эффект ослабляется регулярными физическими нагрузками [315].

Однократное введение в организм симпатомиметических веществ вызывает кратковременную реакцию со стороны периферической крови, происходящую за счет функции депо, в виде увеличения количества эритроцитов, гемоглобина, ретикулоцитов и общего объема крови [242; 243; 358]. Многократное введение в организм адренергических веществ, вызывает стойкое увеличение в периферической крови содержания эритроцитов, гемоглобина и ретикулоцитов, а также стимуляцию и гиперплазию эритроидного ростка костного мозга [242; 261; 453].

При сильных и длительных напряжениях, по истощении резервной мощности антиокислительной системы (АОС), активация ПОЛ приобретает выраженный характер и ведет к патологии [112; 181]. Известно, что при любом экстремальном воздействии развивается дозозависимая активация стресс-реализующих систем, обуславливающая поступление в кровь повышенного количества катехоламинов и кортикостероидов [243; 330; 394]. Катехоламины и особенно глюкокортикоиды обладают антиокислительной активностью [396; 477], это дает основание рассматривать мобилизацию систем нейрогуморальной регуляции как аварийную реакцию, развивающуюся по механизму отрицательной обратной связи в ответ на активацию ПОЛ. Если эта реакция не ликвидирует последствий окислительного сдвига, количество продуктов ПОЛ вновь начинает аутокаталитически нарастать после некоторого латентного периода, длительность которого лимитируется истощением резерва антиоксидантов [29; 90; 92].

По современным представлениям, гиперпродукция катехоламинов вызывает вторичную активацию ПОЛ [131; 394]. Механизм

этой реакции связан с особенностями метаболизма катехоламинов, идущего несколькими параллельными путями. В физиологических условиях главный путь инактивации катехоламинов — метилирование при участии катехол-О-метилтрансферазы (80–90% катехоламинов превращается в метанефрин и норметанефрин). Значительно меньшую роль в инактивации катехоламинов играет окислительное дезаминирование с участием моноаминоксидаз. Инактивация, идущая по пути окислительного распада с образованием адренохрома через промежуточную стадию семихинного радикала, в норме играет второстепенную роль. Наконец, незначительная часть циркулирующих катехоламинов инактивируется путем образования неактивных парных соединений с серной и глюконовой кислотами [10; 265].

При высоких концентрациях катехоламинов в крови, как и при свободном доступе кислорода вне организма, свободнорадикальные интермедиаты катехоламинов выступают в роли инициаторов цепей липопероксидации и становятся фактором патогенеза [422; 452]. Имеющаяся литература подтверждает прямое участие продуктов ПОЛ в реализации неспецифического комплекса повреждений клеточных мембран и в нарушении основных мембранных процессов [28].

1.5.2. Участие холинэргической системы в стресс-реакции и регуляции регенераторных процессов

Парасимпатические нейроны и преганглионарные симпатические нейроны синтезируют ацетилхолин из холина и ацетил-КоА при участии фермента холинацетилтрансферазы (КФ 2.3.1.6) [481]. Ацетилхолин депонируется в синаптических пузырьках и высвобождается при деполяризации. В пресинаптической щели, при участии фермента ацетилхолинэстеразы, происходит гидролиз ацетилхолина с образованием холина и ацетил-КоА, которые подвергаются обратному захвату и используются для нового цикла синтеза [524].

При стрессе происходит высвобождение ацетилхолина из эндотелия, что ведет к вазодилатации и снижению эффекта избыточной

стимуляции катехоламинами [279; 384]. В то же время угнетение выделения ацетилхолина в синаптические щели [366] и снижение плотности Н-холинорецепторов на постсинаптической мембране [441] при стрессе утяжеляет психофизиологические расстройства.

Активность М-холинорецепторов коры головного мозга связана с процессами памяти и обучения [274; 349], поэтому снижение концентрации холинорецепторов [357; 366; 441], наблюдаемое при стрессе и ряде патологических состояний, ухудшает процессы запоминания.

Ряд авторов отмечают участие холинэргических механизмов в регуляции кроветворения [285; 319]. Ацетилхолин вызывает выход лимфоцитов [482; 521] и эозинофилов [266; 370; 504] из костного мозга в периферическую кровь. *In vitro* ацетилхолин способен стимулировать созревание и дифференцировку эритроидных элементов костного мозга, а атропин угнетает эти процессы [359]. Ацетилхолин в условиях стресса вызывает активацию лейкопоэза в костном мозге и усиливает их выход в кровеносное русло [379], а также вызывает вазодилатацию, усиливая кровообращение и снимая патологическую вазоконстрикцию, ведущую к ишемии [473].

Не исключается возможность того, что в холинэргической регуляции гемопоэза не последнюю роль играют структурные варианты фермента ацетилхолинэстеразы, обладающие собственным гемопоэз-индуцирующим эффектом [327]. Показана активация эритропоэза в костном мозге под действием ацетилхолинэстеразы [464; 490]. Ингибиторы ацетилхолинэстеразы обладают выраженным антиоксидантным действием [374].

1.6. Цитопротекторные и антиокислительные свойства даларгина

В начале 70-х годов группа исследователей обнаружила в головном мозге специфические рецепторы к морфину [329]. Это сподвигло многих исследователей на поиск эндогенных лигандов к этим рецепторам [360; 480]. В 1975 году группа шведских ученых нашла и извлекла из головного мозга это пептидное соединение [360; 361]. Они выделили два пентапептида, в дальнейшем названных

«энкефалины» (от греч. «эн кефало» — «в голове»), различающиеся между собой только С-терминальной аминокислотой:

H₂N-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH (метионин-энкефалин),
H₂N-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (лейцин-энкефалин).

В литературе отмечен большой объем информации, раскрывающей обширное биологическое значение энкефалинов [49; 120; 146; 533]. Первоначальные данные касались в основном влияния энкефалинов на психоневрологические реакции, на поведение и как обезболивающие вещества. В дальнейшем представление о действии опиоидных пептидов расширилось, появились факты, демонстрирующие их влияние на висцеральные органы и их регуляцию. Было показано, что в пищеварительной системе, в ганглиях вегетативной нервной системы, в надпочечниках и системе крови имеется повышенное содержание рецепторов к энкефалинам. Опиоидные рецепторы всех основных типов были определены в нервных структурах пищеварительной системы. Эти результаты позволили сделать вывод о непосредственном влиянии опиоидных пептидов — энкефалинов — не только на центральную нервную систему, но и непосредственно на периферические системы организма.

Под руководством профессора М. И. Титова в лаборатории синтеза пептидов Всесоюзного кардиологического научного центра АМН СССР был синтезирован один из аналогов энкефалина — даларгин [506]. Даларгин представлял собой гексапептид, в котором вместо аминокислоты глицин была вставлена аминокислота D-аланин, с целью предотвращения его расщепления ферментами энкефалиназами. Помимо этого к С-концу олигопептида была добавлена заряженная аминокислота аргинин, для предотвращения прохождения даларгина через гемато-энцефалический барьер в ЦНС.

Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu — лейцин-энкефалин,
Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg — даларгин

Данные изменения в лейцин-энкефалине явились основанием для названия полученного гексапептида даларгином (D-АЛАнин-АРГИНин). По результатам серии исследований было выяснено, что даларгин, со временем полураспада 2 минуты, расщепляется

в крови на группу фрагментов, часть из которых обладает опиоидной активностью. Даларгин можно с уверенностью назвать опиоидным пептидом периферического действия с непосредственным влиянием на опиоидные рецепторы многих органов и систем организма. Даларгин в основном взаимодействует с δ -рецепторами и частично с μ -рецепторами. Исследования показали, что даларгин безопасен для применения, не вызывает привыкания и физической зависимости, не оказывает влияния на ЦНС, так как не способен преодолеть гемато-энцефалический барьер. При изучении действия налоксона, антагониста к опиатным рецепторам, было выявлено полное устранение эффекта действия даларгина, что говорит об исключительно рецепторном механизме действия гексапептида. Благодаря этим свойствам даларгин предстает в лучшем свете по сравнению с другими опиоидными соединениями.

По данным литературы, даларгин обладает антиоксидантной активностью [306], но по настоящий момент вопрос о механизме его антиоксидантного действия остается открытым. Вполне возможно, что даларгин способен активировать ферментативную часть антиоксидантной защиты, а также поддерживать уровень низкомолекулярных антиоксидантов в крови или благодаря своей химической структуре непосредственно участвовать в инактивации активных форм кислорода. Также имеются данные об обратном механизме действия даларгина, *in vitro* в нейтрофилах он вызывал активацию пероксидазной ферментной системы [189; 478].

Следует отметить, что на момент создания даларгина его авторы не имели информации об участии аргинина (Arg) во многих метаболических и регуляторных процессах, связанных с NO-системой. Наличие аминокислотного остатка Arg на С-конце даларгина приводит к усилению и расширению спектра антиоксидантного действия олигопептида. В результате образования оксида азота, связанного с активацией Arg-NOS-NO системы, запускаются процессы нитрозилирования и нитрирования различных внутриклеточных субстратов. Это происходит параллельно со свободным окислительным механизмом, присущим активным формам кислорода, и способно на него оказывать тормозящее действие [249; 311]. Эксперименты с отключением действия Arg-NOS-NO системы показали значительное

снижение антиоксидантного и цитопротекторного действия даларгина при патологии [206; 306; 430].

Система Arg-NOS-NO выполняет свои функции в самых разнообразных биохимических и физиологических реакциях. Самым интересным с теоретической и практической точки зрения является действие даларгина на пролиферативные процессы как регулятора клеточного деления. Стоит отметить, что особенность действия даларгина как продуцента NO через систему Arg-NOS-NO зависит от концентрации, а также от окислительно-восстановительного состояния клетки. Низкие концентрации NO усиливают пролиферативную активность различных типов клеток, а средние концентрации блокируют пролиферацию на фоне роста оксидативного стресса [105; 400]. Кроме того, даларгин, опосредованно, через систему Arg-NOS-NO, улучшает питание клеток в местах поражения и воспаления за счет оптимизации процессов микроциркуляции [305].

Следует отметить, что опиатергическая и нитроксидергическая системы оказывают друг на друга синергический эффект. Экстремальное воздействие приводит к увеличению числа опиоидных рецепторов в зоне напряжения, это вызывает рост концентрации энкефалинов. При применении даларгина аргинин, входящий в его состав, переходит в свободное состояние и активирует систему Arg-NOS-NO, это улучшает микроциркуляцию в очаге поражения и увеличивает доступность даларгина. Следует еще раз отметить связь активации нитроксидергической системы с увеличением антиокислительной активности [105; 137; 154; 400].

Система эндогенных опиоидных пептидов оказывает стресс-лимитирующее влияние [282; 487], причем выявлено, что энкефалины облегчают реакцию адаптации не только благодаря антиноцицептивному действию [128; 130], но и путем взаимодействия с симпатoadреналовой системой [417].

Таким образом, в современной литературе широко представлены факты по антиоксидантному эффекту даларгина, где он результативно ингибировал свободные радикалы, уменьшая активность ПОЛ в норме и при различных экстремальных воздействиях [120; 206; 249; 282; 306; 478; 487]. По настоящий момент остается открытым вопрос

о механизме антиоксидантного действия даларгина: либо даларгин усиливает ферментативную антиокислительную активность, либо он, согласно своей химической природе, непосредственно ингибирует активные радикалы. Также в научной литературе слабо затронут вопрос об антиоксидантном и антиатерогенном действии даларгина в возрастном аспекте [410]. Поэтому в данной работе является актуальным изучение антиоксидантного механизма действия даларгина на изменения ПОЛ и липидного состава крови животных разного возраста в норме и при психо-эмоциональном стресс-воздействии.

1.7. Антиоксидантные и седативные свойства комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты

L-триптофан является незаменимой аминокислотой для человека и метаболизирует в организме двумя путями: кинурениновым и серотониновым [429; 492]. Кинурениновый путь является наиболее интенсивным, более 95% всего количества L-триптофана вступает в окисление по кинурениновому пути и приводит к образованию рибонуклеотида никотиновой кислоты, а в конечном итоге — и никотинамидадениндинуклеотида (НАД⁺). Серотониновый путь метаболизма L-триптофана составляет менее 1% в общем метаболизме этой аминокислоты и приводит к образованию нейротрансмиттера серотонина (рис. 3) [269; 433; 498].

При метаболизме по серотониновому пути L-триптофан под действием фермента триптофан-5-монооксигеназы (КФ 1.14.16.4) метаболизирует до 5-гидрокси-L-триптофана, незначительная часть которого может вступать на побочный путь метаболизма с образованием двух конечных продуктов: 6-гидроксикинуреновой кислоты и 4,6-дигидроксихинолина. В основном, 5-гидрокси-L-триптофан метаболизирует под действием ДОФА-декарбоксилазы (КФ 4.1.1.28) до нейромедиатора серотонина. Дальнейшие превращения серотонина возможны по трем основным путям.

Во-первых, под действием фермента моноаминоксидазы (КФ 1.4.3.4) из серотонина образуется 5-гидроксииндолилацетальдегид, который, в свою очередь, метаболизирует до двух конечных продуктов: 5-метоксииндолилацетата и 5-гидроксииндолилацетилглицерина.

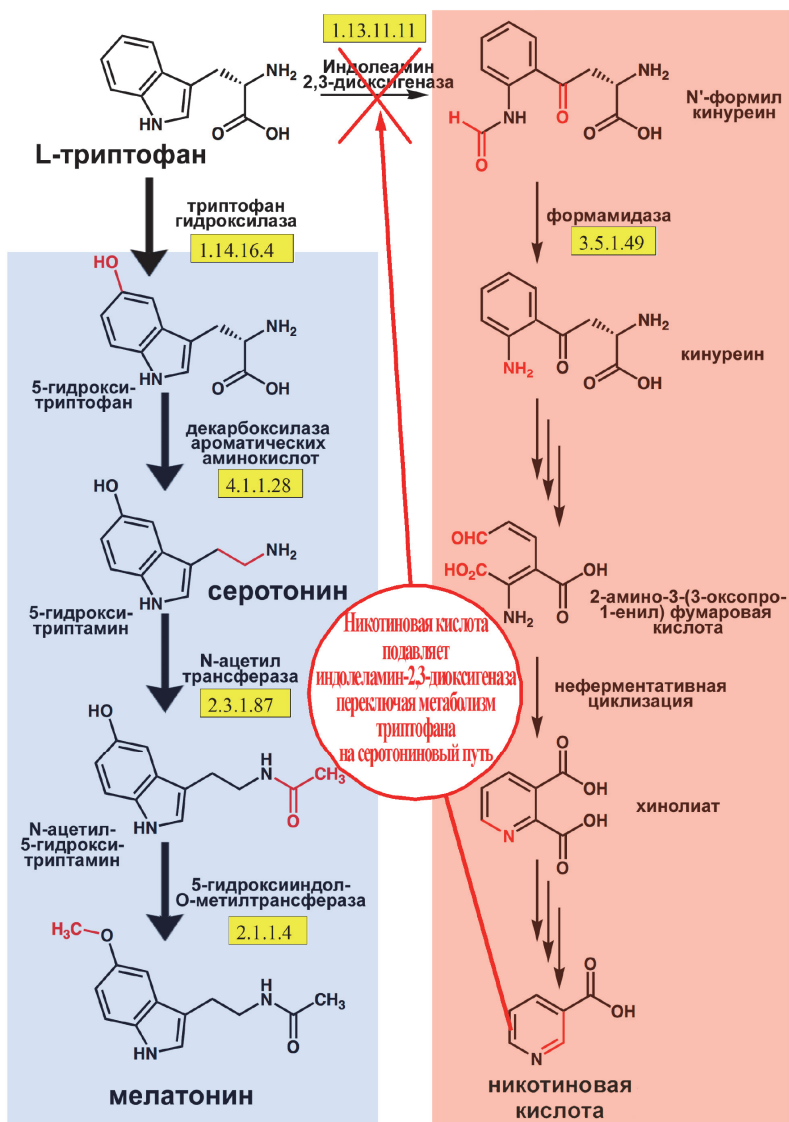


Рис. 3. Метаболизм L-триптофана в присутствии избытка никотиновой кислоты

Во-вторых, при участии фермента серотонинметилтрансферазы (КФ 2.1.1.49) серотонин превращается в N-метилсеротонин (также конечный продукт обмена).

Третий путь метаболизма серотонина включает образование мелатонина. Из серотонина под действием фермента арилалкиламин-N-ацетилтрансферазы (КФ 2.3.1.87) образуется N-ацетилсеротонин. На втором этапе под действием фермента ацетилсеротонин-O-метилтрансферазы (КФ 2.1.1.4) из него образуется собственно мелатонин. Конечным продуктом метаболизма мелатонина является 6-гидроксимелатонин, который образуется из мелатонина под действием фермента из семейства цитохромов P450. Промежуточные продукты обмена L-триптофана могут обладать модифицирующим действием на метаболизм этой аминокислоты, влияя на активность ферментных систем путем конкуренции за субстрат [269; 433; 498]. Было проведено масштабное исследование на крысах по изучению влияния избыточного количества никотинамида в рационе на метаболизм L-триптофана [317; 474; 501]. Авторы показали, что при избыточном поступлении никотинамида не выявляется никаких изменений в кинурениновом пути метаболизма L-триптофана, вплоть до образования полуальдегида аминокарбоксимуконата, что свидетельствует о независимости данной части метаболического пути от концентрации никотинамида.

При этом было обнаружено, что содержание хинолиновой кислоты в моче (продукта спонтанной циклизации полуальдегида аминокарбоксимуконата) повышается с увеличением дозы никотинамида в рационе. Авторы выдвинули две гипотезы для объяснения данного феномена. Первая заключается в том, что никотинамид и хинолиновая кислота конкурируют за общий субстрат — 5-фосфорибозил-1-пирофосфат. Вторая же гипотеза состоит в том, что один из продуктов метаболизма никотинамида ингибирует активность фермента альфа-амино-бета-карбоксимуконат-эпсилон-полуальдегид-декарбоксилазы, что приводит к снижению активности метаболизма L-триптофана по пути образования ацетил-КоА и увеличению спонтанного образования хинолиновой кислоты. Однако, учитывая, что в этой же работе показано, что избыточное поступление никотинамида не влияет на экскрецию с мочой таких

метаболизмов L-триптофана как кинуреновая кислота, антраниловая кислота и ксантуреновая кислота, наиболее вероятной остается первая гипотеза о конкуренции хинолиновой кислоты и никотинамида за общий субстрат.

С другой стороны, американскими исследователями ранее было показано [514], что введение человеку препаратов никотиновой кислоты замедленного высвобождения (ретардированные формы никотиновой кислоты) профилактирует приступы мигрени. Учитывая, что в патогенезе мигрени большое внимание уделяется дефициту серотонина [72; 310; 380], авторы выдвинули гипотезу, что введение никотиновой кислоты ингибирует кинурениновый путь метаболизма L-триптофана и способствует переключению метаболизма этой аминокислоты на серотониновый путь.

Таким образом, никотиновая кислота и никотинамид неоднозначно влияют на обмен L-триптофана. Если никотинамид просто конкурирует с хинолиновой кислотой за общий субстрат, то никотиновая кислота приводит к ингибированию кинуренинового пути с активацией серотонинового пути, что может оказывать существенное влияние на активность метаболических процессов в ЦНС [234; 397; 418; 520]. Однако данные литературы представляют собой единичные исследования, и систематическая оценка этих данных в настоящее время не представляется возможной.

Кроме того, на образование никотинамида из L-триптофана влияет не только изменение его концентрации в рационе, но и другие внешние и внутренние факторы. Существуют данные, что кинурениновый путь метаболизма L-триптофана, ведущий к образованию никотинамида, активируется при холодовом стрессе, причем авторы выдвигают гипотезу о том, что в данном случае подобные изменения вызваны возрастающими потребностями организма в НАД⁺ [426].

В настоящее время общепризнано, что наряду с широко известными ферментными антиокислительными системами организма, антиоксидантные свойства могут проявлять разнообразные конечные и промежуточные продукты обмена веществ. Например, доказано антиоксидантное действие таких веществ как мочева кислота, билирубин, гомованилиновая кислота и многих других. Зачастую механизм антиоксидантного действия подобных «вспомогательных»

антиоксидантов связан со свойствами ферментов, участвующих в их метаболических превращениях, но некоторые из этих метаболитов (включая и некоторые производные L-триптофана), могут сами обладать антиокислительной активностью [445; 502; 535; 471].

В литературе отмечено антиоксидантное действие продукта окисления L-триптофана — 5-гидрокситриптофана [337]. Также отмечено, что триптофан-2,3-диоксигеназа (КФ 1.13.11.11) участвует в первом этапе метаболизма L-триптофана по кинурениновому пути (рис. 3), для разрыва пирольного кольца L-триптофана использует супероксид-анион в качестве кофактора и субстрата, благодаря чему действует в качестве фермента антиоксидантной системы [291]. В этом же исследовании авторы показали, что 5-гидрокси-L-триптофан, 3-гидроксикинуренин, ксантуреновая кислота и 5-гидроксиантраниловая кислота действуют как достаточно сильные антиоксиданты, ингибируя процессы ПОЛ в липосомах.

Эксперименты показывают, что мелатонин, продукт серотонинового пути метаболизма L-триптофана, является прямым перехватчиком гидроксильного и пероксильного радикалов, пероксинитрит-аниона и синглетного кислорода [454; 455]. Данная группа исследователей в указанной работе также выявила, что мелатонин стимулирует ряд антиоксидантных ферментов и обладает стабилизирующим действием на мембраны клеток. В отличие от большинства специфических антиоксидантов (витамин Е — действует только в богатой липидами среде), антиоксидантное действие мелатонина включает защиту липидов мембран, белков в цитозоле и ДНК в ядре. Более того, мелатонин свободно проходит через все морфофизиологические барьеры и с легкостью проникает в любую клетку организма [273]. Подобным, хотя и менее выраженным действием, обладает и серотонин, причем для него сохраняется тот же феномен универсальности приложения антиоксидантных эффектов [253; 264].

Влияние L-триптофана на функцию центральной нервной системы связано исключительно с серотониновым путем его метаболизма [232]. Разнообразные метаболиты серотонинового пути оказывают седативное, антидепрессивное и снотворное действие на организм человека и животных [495; 499].

Первые сведения о снотворном влиянии L-триптофана появились еще в начале 1970 годов [277; 346]. L-триптофан зарекомендовал себя как эффективное и физиологичное снотворное средство [347]. Авторы приходят к заключению, что L-триптофан в качестве снотворного средства позволяет избежать неспецифических побочных эффектов других препаратов, подавляющих активность ЦНС, поскольку действие L-триптофана показано не только эмпирически, но и основано на физиологии и биохимии нормального сна: L-триптофан не нарушает структуру сна и ускоряет время засыпания [347].

Несколько позже, стало изучаться участие L-триптофана в профилактике развития аффективных расстройств, то есть депрессий, маний и биполярного расстройства. В частности, было выявлено, что маниакальные состояния связаны со снижением активности серотонина в центральной нервной системе [408]. Было показано, что L-триптофан, как предшественник 5-гидрокситриптофана, является антидепрессантом, сравнимым по силе с трициклическими антидепрессантами (особенно в случаях преимущественно психомоторных проявлений), и потенцирует действие ингибиторов моноаминоксидазы [293; 297; 298; 446]. Также были продемонстрированы «физиологические седативные» свойства L-триптофана, но клиническое применение данной аминокислоты в качестве седативного средства ставилось под сомнение в связи с небольшой выраженностью данного действия.

Исследования на животных подтвердили снотворное действие L-триптофана на примере его аналога — 2-амино-3-(1-нафтил)-пропановой кислоты, а также доказали, что действие L-триптофана сопровождается значительным снижением активности катехоламинов в головном мозге [316].

Однако, в то же время, стали появляться и данные о том, что L-триптофан действует достаточно избирательно, то есть оказывает свое влияние далеко не на все виды расстройств сна [386], а у пожилых пациентов его снотворное действие вообще ставилось под сомнение [387]. В то же время у молодых больных с преимущественными расстройствами засыпания (но не собственно сна) эффективность и безопасность (включая отсутствие нарушений моторных, когнитивных расстройств и расстройств памяти) L-триптофана была подтверждена в крупных исследованиях [468].

Одновременно с этим продолжалось интенсивное изучение психотропного действия L-триптофана [307; 333]. Было показано, что монотерапия L-триптофаном эффективна при умеренных депрессивных расстройствах (с эндогенным компонентом) и резистентных формах биполярного расстройства, включая депрессивные расстройства у больных паркинсонизмом; потенцирующее действие при лечении L-триптофаном оказывают антидепрессанты (в связи с их серотонинергическим действием) [270].

Было проведено крупное многоцентровое исследование по антидепрессивному и снотворному действию L-триптофана в лечении тяжелых депрессивных расстройств в комбинации с флуоксетином [385]. Данные этого исследования свидетельствуют о том, что комбинация 2 г L-триптофана с 200 мг флуоксетина значительно раньше, чем при монотерапии флуоксетином, приводит к снижению симптомов депрессии, сохраняет физиологическую структуру сна (в отличие от монотерапии флуоксетином, при которой наступает резкое сокращение фазы медленного сна).

Таким образом, L-триптофан и его производные обладают как выраженными антиоксидантными, так и психотропными (седативными и снотворными) свойствами, что определяет широту их фармакологического применения [297; 298; 397; 429; 446; 471; 520].

ГЛАВА 2.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика лабораторных животных

Работа была проведена на крысах-самцах линии Вистар зрелого (8–10 месяцев, массой 200–250г) и старого (19–22 месяца, массой 350–500г) возрастов. Взвешивание крыс производили на весах типа ВНЦ марки ВТЦ-10. Календарный возраст и масса тела экспериментальных крыс соответствовали аналогичным показателям, приводимым в работах ряда авторов [142; 241; 389; 484]. Авторы считают, что исследование процессов старения необходимо сосредоточить в ходе их развития, когда имеется развернутая картина с выраженными процессами повреждения и адаптации, а также когда существует достаточная уверенность в эффективности корригирующих воздействий. В противном случае может быть затруднена интерпретация результатов по возрастным особенностям коррекции нарушенных процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), с выходом на обсуждение различий механизмов старения.

Зрелых и старых крыс, снабженных информацией о дате рождения и календарном возрасте, доставляли из питомников (НИИ геронтологии и гериатрии г. Москвы и питомник «Рапполово» Ленинградской области). Эксперимент с крысами начинали проводить после двухнедельного карантина. Часть животных доставляли в виварий в зрелом возрасте и выдерживали до наступления старого возраста.

Крысы содержались в стандартных условиях лабораторного вивария, получали пищевой рацион в соответствии с приказом № 1179 от 10 октября 1983 г., утвержденным МЗ СССР «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения».

Для учета суточной и сезонной изменчивости исследуемых нами показателей, а также для снижения методической ошибки во всех проведенных нами исследованиях, наряду с опытными животными, в те же дни и часы в эксперименте использовали контрольных животных

[241; 460; 523; 531]. Все исследования были выполнены в соответствии с общепринятыми этическими нормами. Учтены «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденные приказом МЗ СССР № 755 от 12 августа 1977 года; «Европейская конвенция о защите животных, используемых для экспериментов или в иных целях» от 18 марта 1986 года; «Директива по охране животных, используемых в научных целях 2010/63/EU Европейского парламента и Совета» от 22 сентября 2010 года.

Для работы были использованы лабораторные реактивы марки ЧДА (чистый для анализа) или ХЧ (химически чистый) фирм: ООО «Сигма-Алдрич Рус» (Россия), ООО «Реапрепарат» (Россия), ОАО «ЛОМО» (Россия), «BIOLATEST — Erba Lachema s.r.o.» (Чехия).

2.2. Этапы исследования и проводимые на животных воздействия

В соответствии с задачами исследования экспериментальная часть была разделена на шесть этапов.

ПЕРВЫЙ ЭТАП. Изучение влияния иммобилизационного стресс-воздействия на изменения активности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности (АОА) в системе крови зрелых и старых крыс (рис. 4).



возраст крыс	контроль	 иммобилизация		 период после иммобилизации			
		время от начала эксперимента					
	0 часов	6 часов	12 часов	18 часов	24 часа	36 часов	108 часов
зрелые	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.
старые	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.

Рис. 4. Количество и группы крыс в экспериментальном моделировании стресс-реакции с помощью иммобилизационного воздействия

Для достижения стресс-реакции использовалась иммобилизация животных [142; 216; 286; 434]. Иммобилизация животных проводилась с 8 часов утра до 8 часов вечера (12 часов) помещением крыс в тесные пластиковые пеналы, не позволяющие двигаться, но не стесняющие дыхание. Диаметр трубок для всех животных был одинаков (50 мм), но длина трубки для каждого животного подбиралась индивидуально (старые животные, как правило, крупнее).

Для доказательства стресс-реакции у животных, подвергнутых иммобилизации, проводилось исследование лейкоцитарного состава периферической крови [42; 50; 494], морфологическое и биохимическое (измерение аскорбиновой кислоты) исследование надпочечников [50; 494] и измерение двигательной активности в тесте «открытое поле» [36].

В исследовании использовались периферическая кровь и костный мозг. Костный мозг извлекали из бедренных костей, после взвешивания и суспендирования в физрастворе его центрифугировали для получения фракции миелокариоцитов.

ВТОРОЙ ЭТАП. Изучение влияния иммобилизационного стресса и двутретней (частичной) гепатэктомии на изменения активности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности (АОА) в печени зрелых и старых крыс (рис. 5).



Рис. 5. Количество и группы крыс при исследовании иммобилизационного стресс-воздействия и двутретней гепатэктомии

Животные обеих возрастных категорий были поделены на четыре группы: контрольную и три опытные. Животные опытных групп подвергались либо иммобилизационному стрессу, либо двутретьной гепатэктомии по Стоксу, либо иммобилизационному стрессу на фоне регенерации после гепатэктомии. В последнем случае животные подвергались иммобилизационному стрессорному воздействию спустя 60 часов после проведения гепатэктомии. Через 84 часа после гепатэктомии либо через 12 часов после стресса животные умерщвлялись декапитацией.

Гепатэктомия с наложением лигатуры и удалением правой и средней долей печени проводилась в вечерние часы под эфирным рауш-наркозом, для местной анестезии использовались небольшие (0,1 мл) инъекции новокаина.

Декапитация проводилась в утренние часы с использованием диэтилового эфира для анестезии. В исследовании использовались субклеточные фракции гепатоцитов.

ТРЕТИЙ ЭТАП. Исследование действия нейромедиаторов вегетативной нервной системы (адреналин, ацетилхолин) на изменения процессов ПОЛ и АОА при иммобилизационном стресс-воздействии в системе крови крыс разного возраста (рис. 6).

Инъекции нейромедиаторов в отдельности проводились в утреннее время подкожно в следующих дозировках:

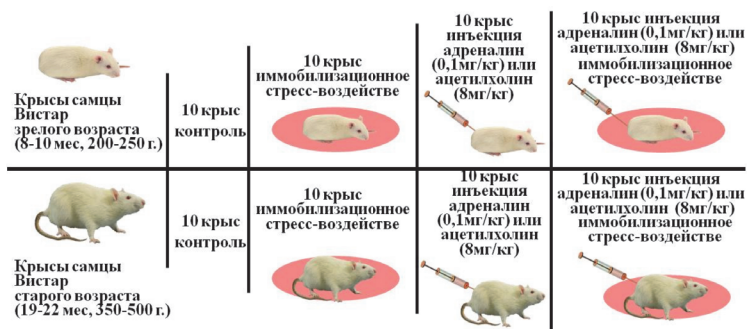


Рис. 6. Количество и группы крыс при исследовании влияния адреналина и ацетилхолина в условиях иммобилизационного стресс-воздействия

1) ацетилхолина хлорида 1,25% раствора 8 мг/кг (производитель «Вектор ГНЦ вирусологии и биотехнологии», Россия);

2) адреналина гидрохлорида 1% раствора 0,1 мг/кг (производитель «Московский эндокринный завод», Россия).

Дозировки адреналина и ацетилхолина были выбраны в соответствии с рекомендациями других авторов [36; 202; 243; 318]. Были исследованы периферическая кровь и костный мозг животных, извлеченный из бедренных костей.

В дополнение к данному этапу исследовательской работы были проведены эксперименты *in vitro* по инкубации миелокариоцитов интактных крыс с адреналином и ацетилхолином. После выделения миелокариоцитов их количество подсчитывали с помощью камеры Горяева и доводили концентрацию клеток до 4×10^7 клеток/мл средой Игла. Жизнеспособность клеток определяли по проценту окрашенных (0,4% раствором трипанового синего) в камере Горяева. Все манипуляции с клетками проводили на льду при температуре 4°C .

Адреналина гидрохлорид для эксперимента брали из запаянных ампул и разводили средой Игла до концентрации $1,6 \times 10^8$ молекул/мл — из расчета 4 молекулы адреналина на одну клетку. Дозировка была выбрана в соответствии с тем условием, что активация адренорецептора происходит только в результате его взаимодействия с четырьмя молекулами адреналина [16; 68; 457].

Ацетилхолина хлорид для эксперимента разводили средой Игла до концентрации 8×10^7 молекул/мл — из расчета две молекулы ацетилхолина на одну клетку. Данная дозировка была выбрана в соответствии с тем, что активация ацетилхолинового рецептора происходит при его контакте с двумя молекулами ацетилхолина [47].

Для оценки уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) и биolumинесценции в миелокариocyтах *in vitro* был применен хемилуминесцентный (ХЛ) анализ. Люминометр-фотометр Lucy 3 с двойным диспенсером и встроенным компьютером (Anthos Labtec Instruments (США) и хемилуминометр (1420.1, ТОО «Конструктор», Россия) был соединен с персональным компьютером с установленной на нем программой «Диагност», созданной указанной фирмой. Ход определения: 0,5–1 мл исследуемого материала вносили в термостатируемую затемненную кюветную камеру люмино-

метра, снабженную мешалкой для перемешивания пробы; прогревали в течение 5 минут до температуры 37°C; записывали фоновое значение свечения после открытия шторки прибора, разделяющей кювету и ФЭУ. Затем в пробу вводили 0,5 мл 3% перекиси водорода для стимуляции ПОЛ в стандартных условиях. Вспышку ХЛ и дальнейшую ее динамику регистрировали в течение 90–180 секунд в виде кривой, отражающей зависимость интенсивности ХЛ от времени. По окончании заданного времени регистрации компьютерная программа «Диагност» рассчитывала в относительных единицах амплитуду и светосумму ХЛ. Амплитуда (h) ХЛ отражает в основном содержание в пробе легкодоступных для окисления соединений, светосумма (SS) ХЛ — соотношение в пробе про- и антиоксидантов.

Эксперименты по изучению миелокариоцитов *in vitro* были разделены на две серии (рисунок 7). В первой серии экспериментов изучалась динамика ПОЛ в миелокариоцитах при инкубации

Исследование динамики ПОЛ в миелокариocyтах крыс при инкубации с адреналином и/или ацетилхолином (хемилюминесцентный анализ с индуцированием H ₂ O ₂)										
время измерения (индуцирование H ₂ O ₂) после введения нейромедиаторов										
на 5с.	на 10с.	на 20с.	на 40с.	на 60с.	на 180с.	на 600с.	на 1800с.	на 3600с.	на 5400с.	на 7200с.
Исследование динамики свечения (биоломинесценции) в миелокариocyтах при инкубации с адреналином и/или ацетилхолином (хемилюминесцентный анализ без индуцирования H ₂ O ₂)										
время измерения после введения нейромедиаторов										
на 1с.	на 2 с.		на 3 с.		на 4 с.		...		до 180 с.	
1.Исследование динамики ПОЛ в миелокариocyтах крыс при инкубации с нейромедиаторами (хемилюминесцентный анализ с индуцированием H ₂ O ₂)									10 старых крыс	10 зрелых крыс
2.Исследование динамики свечения (биоломинесценции) в миелокариocyтах при инкубации с нейромедиаторами (хемилюминесцентный анализ без индуцирования H ₂ O ₂)									5 старых крыс	5 зрелых крыс

Рис. 7. Количество и группы крыс при исследовании *in vitro* влияния адреналина и ацетилхолина на изменения перекисного окисления липидов в инкубируемых миелокариоцитах крыс

с адреналином или ацетилхолином. Отмытые и разведенные миелокариоциты от каждой интактной крысы разделяли на 12 проб, по 0,5 мл каждой пробе. Измерение ХЛ проводили после добавления в пробу адреналина с последующим индуцированием перекисью водорода на 5-й секунде, 10-й секунде, 20-й секунде и т.д. Общее время инкубации 2 часа.

Во второй серии экспериментов изучалась биolumинесценция миелокариоцитов после добавления адреналина или ацетилхолина, но уже без индуцирования перекисью водорода. Миелокариоциты от каждой интактной крысы разделялись на 6 проб по 1 мл в пробе. Адреналин или ацетилхолин добавляли в пробу на 5-й секунде инкубации. Каждое измерение проводилось в течение 90 секунд. Контроль проводился двух типов. В первом контроле вместо адреналина использовалась среда Игла. Во втором контроле вместо миелокариоцитов использовалась среда Игла.

ЧЕТВЕРТЫЙ ЭТАП. Исследование действия нейромедиаторов вегетативной нервной системы (адреналин, ацетилхолин) на изменения процессов ПОЛ и АОА при двутретней гепатэктомии на фоне иммобилизационного стресс-воздействия в печени крыс разного возраста (рис. 8).



Рис. 8. Количество и группы крыс при исследовании влияния адреналина и ацетилхолина в условиях иммобилизационного стресс-воздействия и двутретьной гепатэктомии

Животные контрольной группы подвергались двутретьной гепатэктомии и через 60 часов — иммобилизационному стресс-воздействию. Спустя 12 часов после окончания стрессорного воздействия животных выводили из эксперимента путем декапитации с использованием эфирного рауш-наркоза. Животные опытных групп подвергались тем же воздействиям, но перед гепатэктомией в течение трех дней им проводились инъекции одного из двух выбранных нами нейромедиаторов: адреналина или ацетилхолина. Для чистоты эксперимента животным контрольной группы в течение трех дней перед гепатэктомией проводили инъекции физиологического раствора.

Инъекции нейромедиаторами проводились в дневное время, подкожно. В исследовании использовались субклеточные фракции гепатоцитов.

ПЯТЫЙ ЭТАП. Изучение влияния комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты (Трп + Н.к.) на изменения интенсивности процессов ПОЛ и АОА в организме крыс разного возраста при иммобилизационном стресс-воздействии (рис. 9).

Инъекцию L-триптофана с никотиновой кислотой проводили подкожно в утреннее время контрольным и опытным крысам:

- 1) 1,3% раствор L-триптофана в дозировке 60 мг/кг;
- 2) 1% раствор никотиновой кислоты в дозировке 10 мг/кг.









 Крысы самцы Вистар зрелого возраста (8-10 мес, 200-250 г.)	10 крыс контроль	10 крыс иммобилизационное стресс-воздействие 	10 крыс инъекция L-триптофан (60мг/кг) и никотин. к-та (10мг/кг) 	10 крыс инъекция L-триптофан (60мг/кг) и никотиновая. к-та (10мг/кг) иммобилизационное стресс-воздействие 
 Крысы самцы Вистар старого возраста (19-22 мес, 350-500 г.)	10 крыс контроль	10 крыс иммобилизационное стресс-воздействие 	10 крыс инъекция L-триптофан (60мг/кг) и никотин. к-та (10мг/кг) 	10 крыс инъекция L-триптофан (60мг/кг) и никотиновая. к-та (10мг/кг) иммобилизационное стресс-воздействие 

Рис. 9. Количество и группы крыс при исследовании действия сочетания «L-триптофан и никотиновая кислота» в условиях иммобилизационного стресс-воздействия

Количество L-триптофана и никотиновой кислоты для инъекций были выбраны в соответствии с максимальной общепринятой суточной дозой этих веществ для человека. При расчете дозировки для крыс использовался коэффициент пересчета равноэффективных доз [36].

На данном этапе эксперимента изучали печень, головной мозг, периферическую кровь и красный костный мозг крыс.

ШЕСТОЙ ЭТАП. Изучение влияния даларгина опиатергического аналога лей-энкефалина на изменения интенсивности процессов ПОЛ и АОА в организме крыс разного возраста при иммобилизационном стресс-воздействии (рис. 10).

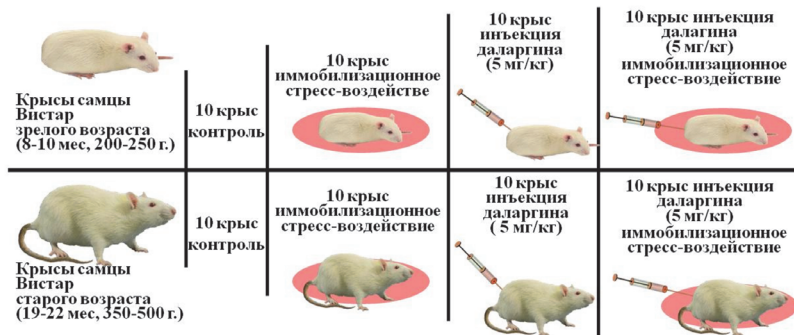


Рис. 10. Количество и группы крыс при исследовании действия даларгина в условиях иммобилизационного стресс-воздействия

По типу экспериментального воздействия крысы были разделены на четыре группы, в каждой группе было две возрастных подгруппы — крысы зрелого возраста и крысы старого возраста.

Первая группа — это интактные крысы (10 крыс зрелого и 10 старого возраста).

Вторая группа — это крысы с иммобилизационным воздействием (10 крыс зрелого и 10 старого возраста). За 12 часов до забоя животных помещали в пластиковые иммобилизационные камеры на 12 часов с целью вызвать психоэмоциональное раздражение, приводящее к стресс-реакции. Развитие стресса контролировалось морфологическим изучением надпочечников.

Третья группа — это крысы с подкожной инъекцией даларгина (производитель: «Микроген НПО ФГУП», Россия) на 1, 2 и 3 сутки до биохимических исследований (10 крыс зрелого и 10 старого возраста). Инъекцию даларгина проводили в утреннее время в дозировке 5 мг/кг. Дозы были выбраны в соответствии с рекомендациями И. А. Волчегорского [36] с использованием коэффициентов пересчета равноэффективных доз для разных видов млекопитающих и человека. Для чистоты эксперимента intactным крысам и крысам второй опытной группы проводили подкожные инъекции физиологического раствора.

Четвертая группа — это крысы с сочетанием инъекции даларгина и иммобилизационного стресс-воздействия (10 крыс зрелого и 10 старого возраста). Инъекцию даларгина проводили на 1, 2 и 3 сутки до иммобилизационного стресс-воздействия.

2.3. Получение периферической крови, миелокариоцитов и гомогенатов органов крыс

Периферическую кровь, полученную при декапитации, собирали в охлажденные на льду чашки Петри, смоченные для предотвращения свертывания крови раствором гепарина (10000 ЕД в 1 мл раствора), и в сухие пробирки для получения сыворотки крови.

Костный мозг извлекали из бедренных костей, которые разрезали с двух сторон — между диафизом и эпифизом. Все манипуляции производили при температуре 0 — +4°C. Костный мозг после взвешивания на торсионных весах суспендировали в десятикратном объеме физиологического раствора и центрифугировали при 3000 об./мин. в течение 10 минут на центрифуге ОПн-8. В результате центрифугирования происходило разделение содержимого пробирки на 4 части (сверху вниз): жировые клетки, супернатант, миелокариоциты, примесь эритроцитов периферической крови. Миелокариоциты отделяли от других фракций и разводили до стандартных значений содержания клеток в забуференном физиологическом растворе. Высокая антиокислительная активность (АОА) и низкая скорость накопления продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в костном мозге и миелокариоцитах давали возможность довольно длительного манипулирования при подготовке органа к исследованию на льду, без

существенного искажения фоновых значений исследуемых показателей ПОЛ и АОА. Супернатант также извлекался и дополнительно центрифугировался при 3000 об./мин. в течение 10 минут, полученный вторичный супернатант извлекался и в дальнейшем использовался в эксперименте как межклеточная среда костного мозга.

Печень и головной мозг крыс перфузировали холодным физиологическим раствором с целью удаления из сосудов органов периферической крови. Затем из организма крыс извлекали одну из долек головного мозга и печени и далее пропускали их через охлажденный пресс с диаметром отверстий 0,7 мм. Полученную тканевую субстанцию взвешивали на весах и суспендировали в буферном физиологическом растворе в соотношении 1 г сырой массы органа на 5 мл раствора. Гомогенизацию образцов органов с целью разрушения клеток производили в гомогенизаторе Поттера-Эльвегейма (стекло — тефлон) с электроприводом при 3000 об./мин. и температуре от 0 до + 4°C в течение 2 минут. Полученный гомогенат фильтровали через капроновую ткань и до исследования хранили обложенный льдом при температуре от 0 до + 4°C.

2.4. Получение субклеточных фракций гепатоцитов печени крыс

После вскрытия брюшной полости у крыс выделяли печень. Для удаления крови печень перфузировали холодным ($t=+4^{\circ}\text{C}$) физиологическим раствором, разрезали на мелкие кусочки и трижды промывали холодным физиологическим раствором. Печень животных гомогенизировали в сахарозном буфере (pH 7,2) [372; 414] с разведением массы ткани к массе буфера в отношении 1:10. Гомогенизацию кусочков печени с целью разрушения клеток производили в гомогенизаторе Поттера-Эльвегейма (стекло — тефлон) с электроприводом при 3000 об./мин. в течение 2 минут. Все манипуляции с печенью производили на льду при температуре от 0 до + 4°C.

После получения гомогената его дифференцировали на субклеточные фракции центрифугированием в рефрижераторной центрифуге 5 мин. при 3000 об./мин. для получения ядерной фракции и 20 мин. при 10000 об./мин. для получения митохондриальной фракции.

В исследованиях также был использован постмитохондриальный супернатант (ПМС). Таким образом, в исследованиях использовались три субклеточные фракции, содержащие, соответственно, ядра в первой, митохондрии — во второй и более легкое содержимое цитоплазмы клетки — в третьей [9]. Фракции, полученные после центрифугирования в виде осадка, разводились тем же сахарозным буферным раствором до 5 мл — ядерная и до 3 мл — митохондриальная.

Полученные фракции подвергались трехразовой разморозке для разрушения мембран субклеточных органелл. После фракции дополнительно дорабатывались до 10 мл сахарозным буфером, чтобы обеспечить все методики материалом, и после того — подвергались второй гомогенизации (также на льду) в течение 1 минуты.

2.5. Методы оценки состояния перекисного окисления липидов в органах, периферической крови и субклеточных фракциях гепатоцитов у крыс

Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по нескольким методам, отражающим различные стадии этого процесса. **Исследование хемилюминесценции (ХЛ)** проводили на приборе люминометре 1420.1 с фотоэлектронным умножителем (ФЭУ) 140 («Конструктор», Россия) и люминометром-фотометром Lucy 3 с двойным диспенсером («Anthos Labtec Instruments», США). Результаты исследования получали в виде графика зависимости интенсивности свечения от времени, учитывали показатели светосуммы и амплитуды ХЛ. В качестве источника стандартного свечения для тестирования ФЭУ использовали светодиод, дающий сверхслабое излучение в области 400–600 нм. Исследование ХЛ проводили на основе методических рекомендаций нескольких групп авторов [33; 61; 193; 508].

Определение диеновой конъюгации высших ненасыщенных жирных кислот проводили в модификации по методу Стальной И. Д. (1977) [198], Кагана В. Е. (1986) [74]. Принцип метода состоит в спектрофотометрической регистрации характерного для продуктов ПОЛ максимума поглощения при длине волны 232 нм (система сопряженных двойных связей в ненасыщенных жирных кислотах — диеновая конъюгация). Измерения проводили на спектрофотометре СФ-46 (ЛОМО)

в ультрафиолетовой части спектра при длинах волн 215 нм (общие липиды) и 232 нм (диеновая конъюгация) против контрольного раствора гептана. Результаты исследования диеновых конъюгатов выражали в молях на грамм (фосфолипидов, общего белка и липидов).

Определение уровня ПОЛ по накоплению малонового диальдегида (МДА) проводили на основе общепринятых методов [74; 199] в модификации, которая заключалась в инкубации гомогената органа в стандартных условиях для индукции ПОЛ. Такой вариант постановки метода дает информацию о соотношении в пробе ПОЛ и АОА. Расчет результатов производили в наномолях МДА на миллион клеток, грамм фосфолипидов, общего белка или липидов.

Для определения содержания гидроперекисей (ГП) липидов в крови и гомогенатах тканей была использована методика Романовой Л. А. и Стальной И. Д. [182]. Принцип метода: в разбавленных водных растворах гидроперекиси липидов окисляют Fe^{2+} до Fe^{3+} . Последний может быть обнаружен с помощью цветной реакции с тиоцианатом аммония при максимуме поглощения 480 нм.

2.6. Методы оценки состояния антиокислительной активности в органах, периферической крови и субклеточных фракциях гепатоцитов у крыс

Активность пероксидазы (КФ 1.11.1.7) определяли по методу Попова [91, 246]. Метод основан на регистрации снижения концентрации индигокармина, который окисляется перекисью водорода в присутствии пероксидазы. Пробы спектрофотометрировали при длине волны 610 нм против дистиллированной воды. Активность фермента рассчитывали в каталах на 1 г белка (для органов) или 1 г гемоглобина (для периферической крови).

Для определения активности каталазы (КФ 1.11.1.6) был использован фотоколориметрический метод, разработанный Королук М. А. с соавт. [101]. Принцип метода основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий комплекс желтого цвета. Измерения проводились на фотоколориметре ФЭК Н-57 при длине волны 400 нм. Активность фермента рассчитывали в каталах на 1 г белка или гемоглобина.

Определение активности супероксиддисмутазы (СОД) (КФ 1.15.1.1.) проводили методом, предложенным В. А. Костюком [103]. Метод основан на способности СОД тормозить реакцию автоокисления кверцетина при рН 10 в присутствии тетраметилэтилендиамина. Измерение активности СОД проводили спектрофотометрически, при длине волны 406 нм, путем записи кинетической кривой, отражающей реакцию ингибирования окисления кверцетина. Активность СОД выражали в мкмоль/мин. мг Нб (или белка тканей).

Активность глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9) определяли спектрофотометрически, по скорости образования окисленного глутатиона при помощи сопряженной реакции с НАДФН-зависимым ферментом глутатионредуктазой. Регистрация изменений оптической плотности, при окислении НАДФН, проводилась на спектрофотометре СФ-46 (340 нм.) в течение 1 мин. [79]. Активность фермента выражали в мккат/мг белка ткани или сыворотки крови.

Определение общей неферментативной антиокислительной активности тканей, крови или субклеточных фракций гепатоцитов проводили по измерению величины торможения перекисного окисления липидов в модельной системе, где в качестве субстрата окисления использовали суспензию липопротеинов желтка куриных яиц [65; 87]. Для приготовления модельной системы из куриного яйца выделяли желток, подсушивали его на фильтровальной бумаге, а затем смешивали с равным объемом фосфатного буфера (40 мМ KH_2PO_4 + 105 мМ KCl , рН 7,5). Полученную суспензию перед использованием разводили в 25 раз тем же буфером. Скорость перекисного окисления липидов определяли по количеству накопившегося МДА. Антиоксидантную активность рассчитывали по формуле:

$$\text{АОА (\%)} = (E_{\text{контр.}} - E_{\text{обр.}} / E_{\text{контр.}}) \times 100, \quad (8)$$

АОА — антиоксидантная активность тканей или сыворотки крови в (%); $E_{\text{контр.}}$ и $E_{\text{обр.}}$ — оптическая плотность, измеренная в образцах и контроле.

Для количественного определения церулоплазмينا использовалась его реакция со свежеприготовленным о-фенилдиаминном, она останавливалась добавлением 96% серной кислоты. Далее проводилось измерение оптической плотности реакционной смеси на длине

волны 492 нм против раствора сравнения; концентрация определялась по калибровочному графику [76; 194].

Исследования перекисной резистентности эритроцитов проводили по методу Покровского А. А. с соавт. (1964). Метод основан на учете степени гемолиза эритроцитов периферической крови в присутствии перекиси водорода. Степень гемолиза эритроцитов определяли с помощью фотометрирования в супернатанте после центрифугирования проб. Перекисную резистентность эритроцитов оценивали в процентах как величину, обратную степени гемолиза эритроцитов.

2.7. Расчет интегральных коэффициентов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности

Учитывая трудность однозначной трактовки состояния ПОЛ и АОА по отдельным показателям, был использован математический подход по обобщению полученных результатов, основанный на применении коэффициента антиокислительной защиты (КАОЗ), предложенный Нагорневым С. Н. (1995) [153]. В результате модификации КАОЗ были выведены формулы коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) и коэффициента антиокислительной активности (КАОА). КПОЛ и КАОА рассчитывались отдельно для каждой крысы и были использованы в дальнейшем анализе материалов монографии.

$$\text{КПОЛ} = \frac{100 \times \sum_{n=1}^n \left[\frac{N_1}{N_{1 \text{ ср.зн.}}} + \frac{N_2}{N_{2 \text{ ср.зн.}}} \dots + \frac{N_n}{N_{n \text{ ср.зн.}}} \right]}{n} \quad (7)$$

N — показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ):

- 1) хемилюминесцентный анализ (ХЛ);
- 2) диеновые конъюгаты (ДК);
- 3) малоновый диальдегид (МДА);
- 4) гидроперекиси (ГП).

$N_{\text{ср.зн.}}$ — средние значения показателей ПОЛ у интактной группы крыс,

n — количество показателей.

$$КАОА = \frac{100 \times \sum_{n=1}^7 \left[\frac{N_1}{N_{1 \text{ ср.зн.}}} + \frac{N_2}{N_{2 \text{ ср.зн.}}} \dots + \frac{N_n}{N_{n \text{ ср.зн.}}} \right]}{n} \quad (8)$$

N — показатели антиокислительной активности (АОА):

- 1) пероксидаза (КФ 1.11.1.7);
- 2) каталаза (КФ 1.11.1.6);
- 3) супероксиддисмутаза (СОД) (КФ 1.15.1.1);
- 4) глутатионпероксидаза (КФ 1.11.1.9);
- 5) общая антиокислительная активность;
- 6) перекисная резистентность эритроцитов;
- 7) церулоплазмин.

$N_{\text{ср.зн.}}$ — средние значения показателей ПОЛ у интактной группы крыс,

n — количество показателей.

2.8. Методы оценки липидного и липопротеинового состава крови, органов и субклеточных фракций гепатоцитов у крыс

Триглицериды. Определение триглицеридов проводилось унифицированным методом, по реакции с ацетилацетоном после экстракции смесью гептана и изопропилового спирта [134]. Принцип метода: триглицериды экстрагируются смесью гептана и изопропилового спирта, в которую переходят только неполярные липиды, а полярные фосфолипиды остаются в водной фазе. Триглицериды омыляются (гидролизуются) щелочью, глицерин окисляется йодной кислотой до формальдегида, который определяется по цветной реакции с ацетилацетоном.

Холестерин. Определение холестерина проводилось унифицированным методом, по реакции с хлорным железом (метод Златкис-Зака) [134]. Принцип метода: содержащийся в плазме или сыворотке крови свободный и эфирносвязанный холестерин окисляется хлорным железом в присутствии уксусной, серной и фосфорной

кислот с образованием ненасыщенных продуктов, окрашенных в красно-фиолетовый цвет. Фосфорная кислота повышает стойкость реактива, содержащего хлорное железо.

Фосфолипиды. Оценить значение перекисного окисления для вновь образующихся мембран субклеточных органелл регенерирующего органа невозможно без оценки фосфолипидного обмена в этих мембранах. Участие процессов ПОЛ в регуляции формирования мембраны уже доказано [263; 488]. В нашей работе мы проводили измерение содержания в субклеточных фракциях фосфолипидов и измерение активности фосфолипазы A_2 как основных показателей фосфолипидного обмена.

Для определения концентрации фосфолипидов был использован метод, описанный у Камышникова В. С. (2000) [76]. Метод основан на определении концентрации органического фосфата, освобождающегося при кислотном гидролизе фосфолипидов, экстрагированных из пробы. Измерение содержания неорганического фосфата проводилось реакцией с молибдатом аммония.

Фосфолипаза A_2 . Для оценки активности фосфолипазы A_2 (КФ 3.1.1.4) использовался метод Тужилина С. А. (1975), основанный на определении количества ненасыщенных кислот, образовавшихся в результате гидролиза лецитина (в качестве субстрата применялась эмульсия яичного желтка) [214].

Фракции липопротеинов очень низкой, низкой и высокой плотности (ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП) определялись иммуноферментным методом в соответствии с методикой, описанной в [9].

Липопротеиновый коэффициент (ЛК) рассчитывали по формуле:

$$ЛК = (ЛПОНП + ЛПНП) / ЛПВП. \quad (9)$$

2.9. Морфологическое исследование периферической крови и надпочечников крыс

Количество эритроцитов и миелокариоцитов подсчитывали в камере Горяева. Содержание гемоглобина определяли гемоглобинцианидным методом с помощью стандартных наборов (НПО «Биохимреактив»). Количество ретикулоцитов подсчитывали

в мазках периферической крови, окрашенных бриллиант-крезиловой синью, при увеличении микроскопа 10х90х1,5 с иммерсионным объективом [102]. Извлеченные надпочечники обезвоживали жидкостью Карнуа и Ценкера и затем заливали в парафин по общепринятой методике [135]. С помощью микротомы модели 1165 (Rotocut Reichert Jung) получали срезы толщиной 5–6 мкм и после депарафинации окрашивали их гематоксилином и эозином [135].

2.10. Методы доказательства развития стресс-реакции у крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Лейкоцитарную формулу (процентное соотношение различных видов лейкоцитов) подсчитывали в мазках периферической крови, высушенных на воздухе, зафиксированных в метаноле в течение 5 минут и окрашенных по Романовскому (азур-эозином в течение 25 минут) [134]. Подсчет лейкоцитарной формулы проводили на 300 клеток для более точного вычисления соотношения количества лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов, необходимого для определения разновидности адаптационной реакции [42; 241]. Для исследования состава периферической крови использовался микроскоп МБИ-6 (ЛОМО, г. Санкт-Петербург).

Стереотипная гематологическая реакция на стресс выражалась в увеличении количества циркулирующих сегментоядерных нейтрофилов на фоне лимфопении [36; 42]. В среднем у старых и зрелых крыс при иммобилизации уровень сегментоядерных нейтрофилов увеличивался на 84,55% ($p < 0,05$), а лимфоцитарный индекс периферической крови понижался на 56,11% ($p < 0,05$), что соответствует данным, приводимым указанными авторами при описании гематологической картины в условиях стресс-реакции.

Нервная система контролирует состояние вегетативных функций и механизмы эндокринной регуляции многих биологических систем, включая животных и человека, позволяя осуществлять поведенческую адаптацию [271; 406; 503]. Поэтому изучение поведения животных может служить важным критерием оценки наличия стресс-реакции на экстремальное воздействие (иммобилизация). Исследование двига-

тельной активности животных проводилось в тесте «открытое поле», предложенном Волчегорским И. А. с соавт. (2000) [36]. Производился подсчет суммарной двигательной активности животных (горизонтальной локомоции и вставания на задние конечности) спустя 12 часов после 12-часовой иммобилизации.

Исследование двигательной активности животных в тесте «открытое поле» показало в обеих возрастных группах при 12-часовой иммобилизации достоверное снижение суммарной двигательной активности. Это соответствует данным, полученным Волчегорским И. А. с соавт. (2000) [36]. При изучении поведения животных в «открытом поле» после стресс-воздействия во всех случаях он наблюдал депрессию поведения, что, по мнению автора, может служить доказательством наличия стресс-реакции в виде осуществления поведенческой адаптации.

Масса надпочечников входит в классическую «триаду» Г. Селье и является часто используемым показателем наличия стресс-реакции у животных [191; 241]. Надпочечники животных взвешивались спустя 12 часов после 12-часовой иммобилизации. Для взвешивания надпочечников использовались торсионные весы ВТ-500. Масса надпочечников в среднем увеличилась на 105% ($p < 0,05$), что соответствует классическому представлению о стрессе [36; 50; 191; 225].

2.11. Некоторые вспомогательные лабораторные методы исследования

Содержание общего белка в сыворотке крови и в гомогенатах органов животных определяли биуретовым методом с помощью стандартных наборов реактивов (Реапрепарат «ДИА-М», Москва). Перед определением белка из гомогенатов органов экстрагировали мешающие определению липиды и пигменты подогретой (до 50 С°) смесью этилового спирта с диэтиловым эфиром (4: 1) [76; 134].

Содержание аскорбиновой кислоты в гомогенате надпочечников определяли по методу, основанному на способности аскорбиновой кислоты восстанавливать 2,6-дихлорфенолилиндофенол [76; 102].

2.12. Методы статистической обработки результатов исследования

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Excel для Windows XP. Полученные данные подвергали статистической обработке с использованием параметрических и непараметрических критериев статистики. Для оценки количественных показателей в случае нормального распределения выборки (распределения Гаусса) использовался параметрический t-критерий Стьюдента. Для описания различий между двумя независимыми выборками, выходящими за нормальное распределение, использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни, позволяющий выявлять различия между малыми выборками. Для выявления взаимосвязей между рядом показателей был использован корреляционный анализ с линейным коэффициентом корреляции Пирсона. Все данные были приведены как среднее арифметическое, стандартное отклонение и ошибка среднего с 95% доверительным интервалом (статистически достоверные различия принимали при $p < 0,05$). В экспериментальных исследованиях сравнение проводили между опытными и контрольными группами зрелых и старых животных [104].

ГЛАВА 3.

ВЛИЯНИЕ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕСС-ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ИЗМЕНЕНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, АНТИОКИСЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ СОСТАВ КРОВИ КРЫС ЗРЕЛОГО И СТАРОГО ВОЗРАСТА

Работы последних десятилетий показали важное участие процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности (АОА) в механизмах реализации стресс-реакции на различные экстремальные воздействия [48; 49; 124; 142]. Увеличение уровня перекисного окисления служит одним из показательных маркеров и компонентов развития стресс-реакции [166; 238; 246]. В свою очередь, активация ПОЛ приводит к ответному увеличению активности антиокислительной системы, что играет важную роль в реализации адаптации к стрессу [33; 90; 130; 225]. Процессы перекисного окисления и состояние антиокислительной активности в настоящее время считаются одним из важных механизмов регуляции психофизиологических реакций при стрессе [19; 320; 405].

В современной литературе присутствуют описания экспериментального моделирования стресс-воздействия, и большинство из них связано с изоляцией или высокой физической нагрузкой [200; 225; 326; 436]. Не менее адекватной моделью стресс-воздействия является гиподинамический стресс или иммобилизация. [36; 242]. При использовании иммобилизации возникают типичные для стресса изменения в системе крови, надпочечниках и ЦНС [35; 299; 522]. Воздействие иммобилизации, как психосоматического стресс-воздействия, увеличивает выход катехоламинов, вызывающих активацию ПОЛ в организме [160; 224; 331; 505].

Простота в работе с моделью иммобилизации, ее дешевизна, доступность и отсутствие повреждающих факторов для исследуемых объектов сделали эту модель приоритетной и целесообразной для проведения данной работы.

Иммобилизационное воздействие, как и любое другое экстремальное стресс-воздействие, может приводить к активации свободнорадикальных процессов в организме зрелых и старых животных. При этом в организме старых животных происходит утилизация продуктов ПОЛ, сопровождающаяся образованием Шиффовых оснований, что приводит к модификации внутриклеточных макромолекул и облегчает повреждение клеток. Напротив, в тканях животных зрелого возраста утилизация продуктов ПОЛ не приводит к накоплению Шиффовых оснований, что уменьшает стрессовые повреждения [207; 325; 534].

Таким образом, представляется актуальным оценить изменения, происходящие с процессами ПОЛ и АОА в системе крови крыс, как в процессе иммобилизационного стресс-воздействия, так и после окончания данного воздействия, а также сравнить динамику процессов ПОЛ и АОА в системе крови при иммобилизационном стресс-воздействии между группами животных зрелого и старого возраста.

3.1. Состояние процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Данные литературы относительно изменений в системе крови при действии стресса отличаются противоречивостью. С одной стороны, высказывается мнение о том, что система крови, подвергаясь старению, теряет резервы адаптации, необходимые для адекватного ответа на стресс [124; 142; 238; 246]. Однако при этом в некоторых исследованиях не выявлено никаких достоверных изменений в системе гемопоза в стрессовых ситуациях с возрастом [90; 181; 254; 309]. Существующие противоречия исследователи связывают как с выраженной неоднородностью исследуемых групп, так и с отсутствием в литературе стандартизованных протоколов для проведения сравнительных исследований такого рода.

Динамика ПОЛ крови в ходе развития стресс-реакции имеет фазный характер [53], эти фазные изменения обратно пропорциональны стадиям стресса (тревога (шок, противошок), резистентность,

истощение) [191] (рис. 11, 12). Это указывает на то, что уровень активности ПОЛ в организме является одним из критериев развития стресс-реакции, причем по величине ПОЛ можно установить, в какой стадии стресс-реакции находится организм (рис. 6).

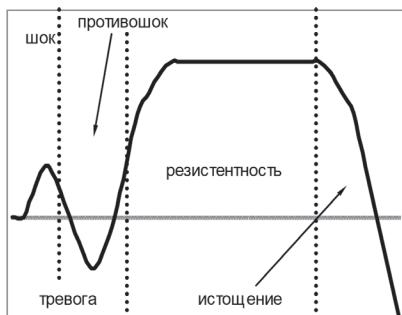


Рис. 11. Динамика изменения резистентности к стрессу при развитии общего адаптационного синдрома (Селье Г., 1982) [189]

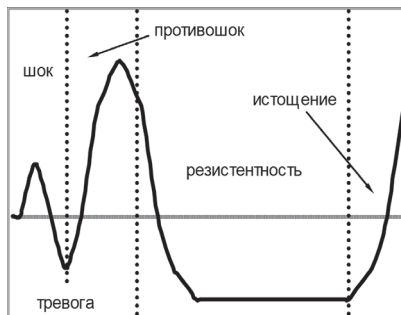


Рис. 12. Динамика перекисного окисления липидов в крови и головном мозге при развитии общего адаптационного синдрома (Гуляева Н.В., 1989) [53]

3.1.1. Состояние процессов перекисного окисления липидов в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Изучение перекисного окисления липидов (ПОЛ) в периферической крови (плазма, эритроциты) зрелых и старых интактных крыс не выявило достоверных возрастных различий, обнаружилась лишь тенденция к более высоким показателям коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) у зрелых крыс. При исследовании показателей ПОЛ периферической крови крыс на фоне иммобилизационного стресс-воздействия были получены данные, демонстрирующие фазное изменение показателей ПОЛ в соответствии со стадиями (тревога (шок, противошок), резистентность) (рис. 13). В фазе шока (6 час эксперимента) у зрелых животных происходит повышение уровня ПОЛ на 13,2% ($p > 0,05$) и незначительное повышение у старых животных (таблица 1).

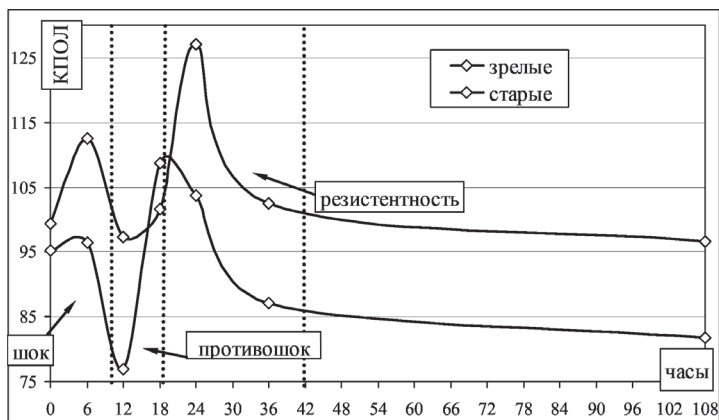


Рис. 13. Динамика коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Таблица 1

Изменение коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ%) в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Воз- раст крыс	Конт- роль	Иммобилизация		Период после иммобилизации			
	0 часов	6 часов	12 часов	18 часов	24 часа	36 часов	108 часов
	Время от начала эксперимента						
Зрелые	99,5 ±9,0	112,6 ±10,6	97,3 ±16,7	101,7 ±5,4	127,0 ±11,2**	102,6 ±10,1	96,6 ±13,6
Старые	95,3 ±6,3	96,5* ±2,3	76,9 ±20,3	108,7 ±6,2**	103,7* ±13,0	87,1* ±4,6**	81,7 ±4,8**

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении двух возрастов;

** — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой (одного возраста).

Эти изменения, во-первых, можно связать с ролью центральной нервной системы, контролирующей пусковые механизмы, активирующие процессы ПОЛ в начальных стадиях стресса при психо-эмоциональном напряжении. Экстремальное стресс-воздействие на организм

животных сопровождается ответной реакцией в виде выброса в кровь адреналина, который, по мнению некоторых ученых, способен активировать ПОЛ [53; 97]. Во-вторых, в данной ситуации происходит перестройка в работе биогенных радикал-генерирующих систем с изменением кислородного метаболизма [66]. К этим системам относятся, цепи электронного транспорта в митохондриях и эндоплазматическом ретикулеуме [49; 124], а также фагоцитирующие эффекторы воспаления [33].

В стадии тревоги (рисунок 13) активируется срочная адаптация; у зрелых и старых крыс к 12 часу эксперимента происходит снижение уровня ПОЛ (таблица 1). У зрелых крыс коэффициент перекисного окисления липидов (КПОЛ) имел тенденцию к уменьшению, у старых крыс уменьшился на 19,3% ($p > 0,05$) по сравнению с контролем. Полученное снижение коэффициента ПОЛ можно связать с действием ферментативных и неферментативных антиоксидантов [28; 29; 35].

При исследовании показателей коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) в периферической крови крыс были получены данные, демонстрирующие фазное изменение ПОЛ в ходе стресс-реакции с проявлением всех стадий (шок, противошок (тревога), резистентность). Имобилизационное стресс-воздействие увеличивало уровень КПОЛ в периферической крови животных: у зрелых крыс уровень КПОЛ был выше, чем у старых крыс. Изменения КПОЛ, вызванные имобилизацией у зрелых крыс, происходят раньше, чем у старых крыс, с опережением в несколько часов.

3.1.2. Состояние процессов антиокислительной активности в периферической крови зрелых и старых крыс при имобилизационном стресс-воздействии

Величина коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в крови старых интактных крыс был достоверно выше на 21,1% ($p < 0,05$) по сравнению со зрелыми крысами. При изучении динамики КАОА в крови зрелых и старых крыс на фоне имобилизационного стресс-воздействия в стадии тревоги происходит ингибирование ПОЛ, при этом уровень АОА максимален (рис. 14). В стадии тревоги (12-й час эксперимента) у зрелых животных КАОА был больше на 52,2% ($p < 0,05$), у старых животных — на 26,5% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (таблица 2).

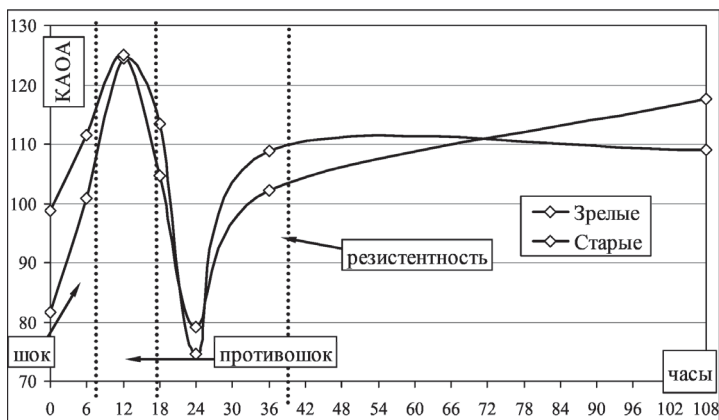


Рис. 14. Динамика коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Таблица 2

Изменение величины коэффициента антиокислительной активности (КАОА%) в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Воз- раст крыс	Конт- роль	Иммобилизация		Период после иммобилизации			
	0 часов	6 часов	12 часов	18 часов	24 часа	36 часов	108 часов
	Время от начала эксперимента						
Зрелые	81,6 ±10,7	100,9 ±3,8**	124,4 ±12,2**	113,4 ±8,0**	74,5 ±7,8	108,9 ±2,3**	109,1 ±4,8**
Старые	98,8* ±2,3	111,6* ±5,2**	125,0 ±12,7**	104,6 ±15,0	79,1 ±10,1**	102,1 ±10,6	117,6 ±16,6

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении двух возрастов;

** — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой (одного возраста).

Увеличение КАОА в фазу противошока связано с мобилизацией и выходом из различных депо неферментативных и ферментативных антиоксидантов. Известно, что активность каталазы в эритроцитах больше, чем в плазме крови [443]. При экстремальном воздействии

фермент каталаза, находящийся в эритроцитах, выходит из мембраны и примембранного пространства цитоплазмы эритроцитов в плазму крови, увеличивая общую АОА [107]. Были получены данные, подтверждающие этот факт: изменения ферментативного КАОА были обратно пропорциональны изменениям активности эритроцитарной каталазы (рис. 15). То есть при увеличении ферментативной АОА в плазме крови в стадию резистентности у животных происходило уменьшение каталазной активности в эритроцитах, что свидетельствует о миграции каталазы из примембранного пространства цитоплазмы эритроцитов в плазму крови. В стадию резистентности (18–30 часов) при развитии стресс-реакции на иммобилизационное воздействие у зрелых и особенно старых крыс запускались механизмы адаптации, связанные с активацией и выходом из депо антиоксидантов, в том числе и каталазы. Дальнейшее повышение активности каталазы эритроцитов у крыс на поздних этапах стресс-реакции (30–110 часов) можно связать с обратной миграцией фермента из плазмы крови в эритроциты.

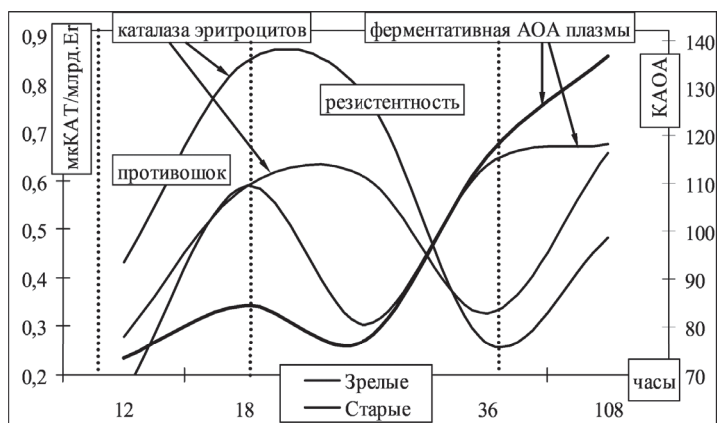


Рис. 15. Сравнительная динамика активности каталазы в эритроцитах и ферментативного коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

В ходе стадии тревоги при стресс-реакции увеличивается уровень витамина Е (выходит из жирового депо), холестерина и других природных метаболитов, выполняющих роль ловушек свободных радикалов [281; 462]. На этапе начального ингибирования ПОЛ при стрессе возрастает супероксидперехватывающая активность безбелкового экстракта сыворотки крови [53]. Супероксидперехватывающей способностью обладают находящиеся в сыворотке крови комплексы аминокислот с медью, жирорастворимые витамины А и Е, свободные тиоловые группы, мочевиная кислота.

Иммобилизационное воздействие на животных приводило к фазной динамике изменения величины коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в периферической крови крыс с проявлением стадии тревоги, резистентности и адаптации (рис. 14). Развитие стадий КАОА в периферической крови крыс при иммобилизационном стресс-воздействии происходило в обратной зависимости от стадий изменения КПОЛ, что связано на стадии тревоги с неферментативной АОА (рис. 16), а на последующих стадиях — с ферментативной АОА (рис. 15). Таким образом, для дальнейших экспериментов наиболее показательным является время начала стадии

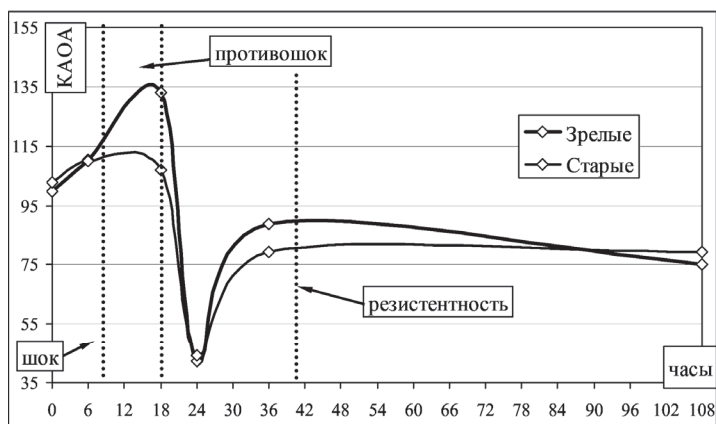


Рис. 16. Динамика коэффициента неферментативной антиокислительной активности (КАОА) в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

резистентности (12 часов после иммобилизации): именно в это время происходит запуск механизмов долговременной адаптации с активацией синтеза ферментативных антиоксидантов (рис. 15).

Динамика изменений процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности (АОА) в периферической крови крыс при развитии адаптационного синдрома на экстремальное воздействие имеет фазный характер, соответствующий классической схеме развития стресса, описанной Г. Селье (1979) [53; 191]. То есть в динамике изменения интенсивности ПОЛ и АОА можно выделить фазы шока и противошока, объединяющиеся в стадию тревоги, также наблюдаются стадия резистентности и заключительная стадия, приводящая к истощению или адаптации.

Так как неферментативные антиоксиданты большей частью не регенерировали в организме [27; 35; 50], то по мере их расходования на обезвреживание активных радикалов начальное ингибирование ПОЛ в стадии тревоги сменялось активацией (рис. 13). Через 6–12 часов после иммобилизационного стресс-воздействия (18–24 часа эксперимента) активность ПОЛ у зрелых животных увеличивалась на 27,6% ($p < 0,05$), у старых животных — на 14,1% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем одного возраста (таблица 1). При этом наблюдалось снижение неферментативной АОА (рис. 16), и к 12 часам после иммобилизационного стресс-воздействия (24-й час эксперимента) у зрелых крыс неферментативная АОА снизилась на 57,7% ($p < 0,05$), у старых крыс — на 54,8% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (таблица 3).

Нарушения микроциркуляции, наблюдаемые при стрессе, приводили к усиленному радикалообразованию и разрыхлению структуры мембран [28]. Кроме того, катехоламины с увеличением своей концентрации вместо антиокислительных свойств приобретали прооксидантные свойства [4; 224]. При аутоокислении катехоламинов в фенольном кольце может образоваться эндоперекисная группировка, в результате чего они превращаются в генераторы свободных радикалов. Все перечисленные выше процессы создавали благоприятные условия для активации процессов ПОЛ в организме.

В период истощения резервов срочной адаптации (18–20-й час эксперимента) на первый план выходили механизмы долговременной

Таблица 3

**Изменение величины коэффициента неферментативной
антиокислительной активности (КАОА%) в периферической крови
зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии**

Возраст крыс	Кон- троль	Иммобилизация		Период после иммобилизации			
	0 часов	6 часов	12 часов	18 часов	24 часа	36 часов	108 часов
Зрелые	100,0 ±21,7	110,4 ±27,2	126,4 ±18,2	133,0 ±24,8	42,3* ± 9,3	88,7 ±6,8	75,0 ±23,0
Старые	102,8 ±5,0	110,0 ±26,8	112,0 ±16,7	107,0 ±24,9	44,0* ±20,2	79,3 ±22,1	79,1 ±55,7

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

адаптации, и стадия тревоги переходила в стадию резистентности. С этого этапа уровень ПОЛ контролировался в основном синтезом ферментов с антиокислительными свойствами (супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза, глутатионпероксидаза и т. д.). Благодаря этому происходило постепенное уменьшение уровня ПОЛ вплоть до нормализации и дальнейшего его понижения (рис. 13). Так, через 4 суток после иммобилизации (108-й час эксперимента) величина КПОЛ в периферической крови зрелых крыс уменьшилась на 2,9% ($p > 0,05$), у старых крыс — на 14,3% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем каждого возраста (таблица 1).

Многие авторы связывают долговременную адаптацию с изменением ферментативного спектра и как следствие — биохимических процессов в клетке [128; 131]. Для осуществления такой перестройки клетке, в первую очередь, необходимо произвести изменения в работе генетического аппарата, а именно в контроле над синтезом специфических белков. Так, по данным Меерсона Ф.З. с соавторами (1987) [132], спустя 24 часа после 6 часов иммобилизации с проявлениями стресс-реакции уровень синтеза РНК и РНК-полимераз (печень, сердце, селезенка) достигает максимальных значений по сравнению с нормой (рис. 17) [132], что доказывает увеличение синтеза белка при включении механизмов долгосрочной адаптации.

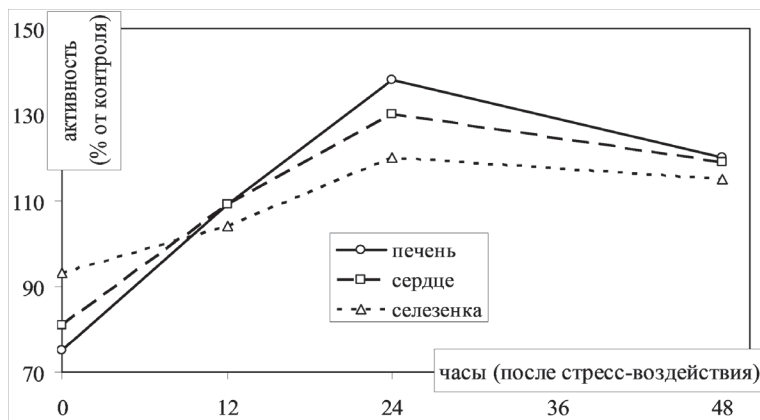


Рис. 17. Изменение активности РНК-полимеразы при действии иммобилизационного стресса
(по данным Явич М.П., Меерсона Ф.З., 1987) [132]

3.2. Изменения лейкоцитарного состава периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Функционально и анатомически взаимосвязанные системы крови и иммунного надзора характеризуются высокой чувствительностью к разнородным стрессогенным воздействиям [50; 494]. Стереотипная гематологическая реакция на экстремальные раздражители развивается достаточно быстро и может быть зарегистрирована по сдвигам лейкоцитарного состава периферической крови и лимфоидных органов. В первую очередь это касается увеличения количества циркулирующих сегментоядерных нейтрофилов на фоне лимфопении [42].

При анализе лейкоцитарного состава периферической крови после воздействия 12-часовой иммобилизации были получены данные, подтверждающие развитие стресс-реакции. После иммобилизации содержание сегментоядерных нейтрофилов у животных разного возраста, как и следовало ожидать, увеличилось (рис. 18). В среднем и у зрелых, и у старых крыс уровень сегментоядерных нейтрофилов увеличился в 2 раза ($p < 0,05$).

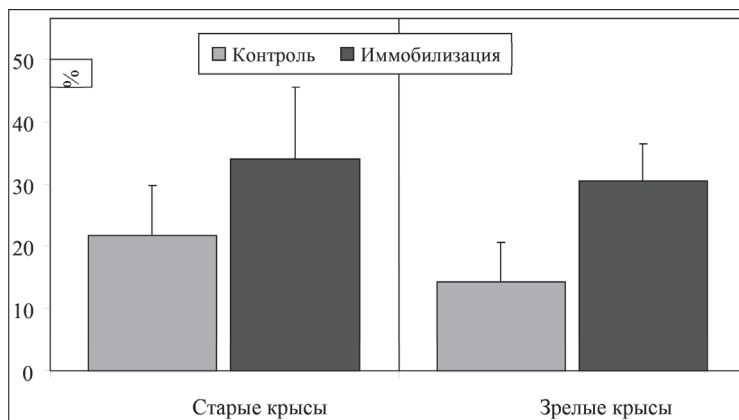


Рис. 18. Количество сегментоядерных нейтрофилов у зрелых и старых крыс спустя 12 часов после иммобилизации

Анализ возрастных различий содержания сегментоядерных нейтрофилов в норме и при иммобилизационном стресс-воздействии показывает большее вовлечение этих клеток в реализацию стресс-реакции у старых животных по сравнению со зрелыми. У крыс старшего возраста при иммобилизационном стресс-воздействии количество сегментоядерных нейтрофилов было больше на 11,5% ($p>0,05$) по сравнению со зрелыми крысами (таблица 4).

Сравнение экспериментальных данных с контрольными группами каждого возраста показало, что уровень сегментоядерных

Таблица 4

Изменение количества сегментоядерных нейтрофилов при иммобилизационном стресс-воздействии у животных разного возраста

Название групп	Воздействие 12 часов иммобилизации, исследования проводили спустя 12 часов после иммобилизации	
	Старые крысы (%)	Зрелые крысы (%)
Контроль	21,75 ± 7,99	14,33 ± 6,27
Опыт	34,00 ± 11,60	30,50 ± 5,89 *

Примечание: * — $p<0,05$ при сравнении с контрольной группой (одного возраста).

нейтрофилов при иммобилизации у старых животных увеличился на 56,3% ($p>0,05$), у зрелых животных — на 112,8% ($p<0,05$) (таблица 4). Данные цифры свидетельствуют о том, что в ходе протекания общего адаптационного синдрома у старых крыс пул сегментоядерных нейтрофилов в крови пополняется за счет демаргинации этих клеток в сосудистом русле и их мобилизации из костного мозга в кровоток. У зрелых животных, по-видимому, на первом месте стоит компенсаторное усиление гранулоцитопоза с последующим увеличением в крови пула сегментоядерных нейтрофилов (рис. 19).

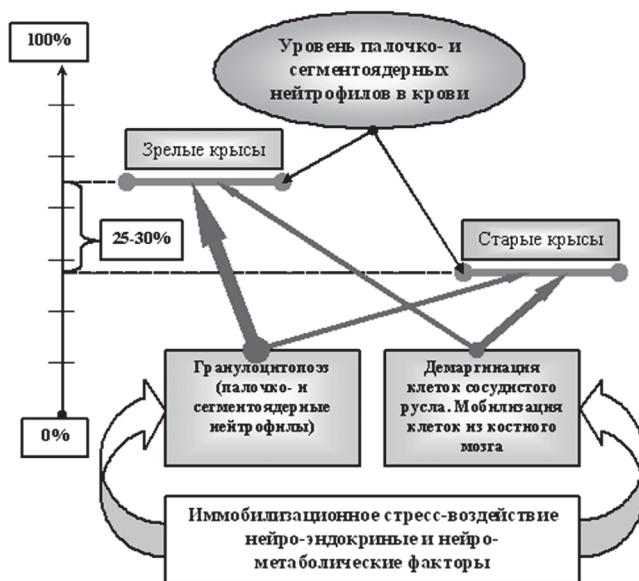


Рис. 19. Причины возрастного различия палочко- и сегментоядерных нейтрофилов в крови крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Кроме сегментоядерных нейтрофилов маркером протекания в организме общего адаптационного синдрома могут быть и палочкоядерные нейтрофилы [42; 225; 242; 247], которые являются предшественниками сегментоядерных нейтрофилов. Полученные экспериментальные данные показывают, что у животных старого и зрелого

возраста при иммобилизационном стресс-воздействии количество палочкоядерных нейтрофилов, так же как и сегментоядерных, увеличилось (рис. 20), что может служить дополнительным доказательством развития стресс-реакции.

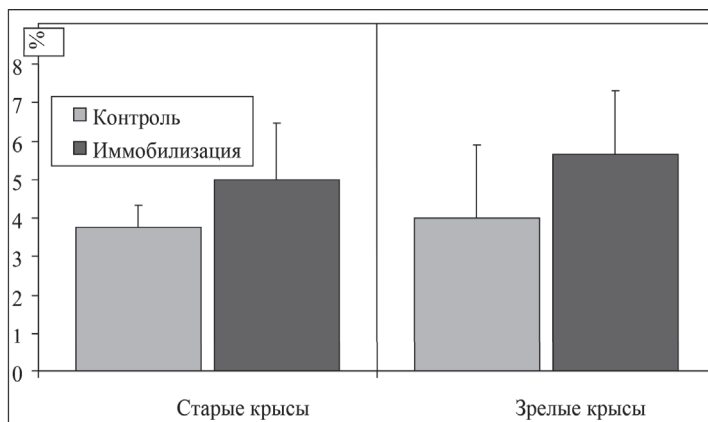


Рис. 20. Количество палочкоядерных нейтрофилов у старых и зрелых крыс спустя 12 часов после иммобилизации

В среднем у старых и зрелых крыс уровень палочкоядерных нейтрофилов после иммобилизационного стресс-воздействия увеличился на 37,5% ($p>0,05$) по сравнению с контролем каждого возраста (таблица 5). При сопоставлении этих результатов с данными Волчегорского И. А. (2000) можно увидеть соответствие в изменении количества исследуемых клеток. Так, по данным автора, количество палочкоядерных нейтрофилов после 9 часов иммобилизации увеличилось на 233,3% ($p<0,05$). Возрастной анализ количества палочкоядерных нейтрофилов в норме и при иммобилизации дал ту же картину, что и возрастной анализ сегментоядерных нейтрофилов (рис. 18, таблица 4). У животных старого возраста уровень палочкоядерных нейтрофилов после стресс-воздействия возрос на 33,3% ($p>0,05$), у животных зрелого возраста — на 41,7% ($p>0,05$) по сравнению с контролем каждого возраста (таблица 5).

Таблица 5

**Изменение количества палочкоядерных нейтрофилов при
иммобилизационном стресс-воздействии у животных разного возраста**

<i>Название групп</i>	<i>Воздействие 12 часов иммобилизации, исследования проводили спустя 12 часов после иммо- билизации</i>	
	<i>Старые крысы (%)</i>	<i>Зрелые крысы (%)</i>
Контроль	3,75 ± 0,57	4,00 ± 1,89
Опыт	5,00 ± 1,46	5,66 ± 1,64

Большее увеличение доли палочкоядерных нейтрофилов при развитии стресс-реакции у зрелых животных свидетельствуют о том, что, помимо механизмов демаргинации этих клеток в сосудах и миграции их из костного мозга, включается механизм компенсаторного гранулоцитопоза.

Согласно теории развития общего адаптационного синдрома стресс-реакция должна сопровождаться не только увеличением нейтрофилов (сегментоядерные, палочкоядерные), но и лимфопенией [42; 225; 242]. Исследование динамики лимфоцитов в крови при иммобилизационном стресс-воздействии показало уменьшение их количества, то есть, как и следовало предполагать, 12-часовая иммобилизация животных дает положительный результат на лимфопению и на развитие стресс-реакции (рис. 21). Уровень лимфоцитов в среднем у старых и зрелых животных понизился на 22,6% ($p > 0,05$) по сравнению с контролем каждого возраста (таблица 6).

Сравнение групп животных разного возраста показывает большее вовлечение процессов лимфопении в реализацию стресс-реакции у животных старого возраста по сравнению со зрелым возрастом. У животных старого возраста уровень лимфоцитов после иммобилизационного воздействия понизился на 37,1% ($p > 0,05$), у зрелого возраста — на 8% ($p > 0,05$) по сравнению с контролем каждого возраста (таблица 6).

После иммобилизационного стресс-воздействия уровень лимфоцитов у зрелых животных оказался выше на 14% ($p > 0,05$) по сравнению со старыми животными. Это различие является результатом большего вовлечения лимфопении в реализацию стресс-реакции у старых животных по сравнению со зрелыми (рис. 21, таблица 6).

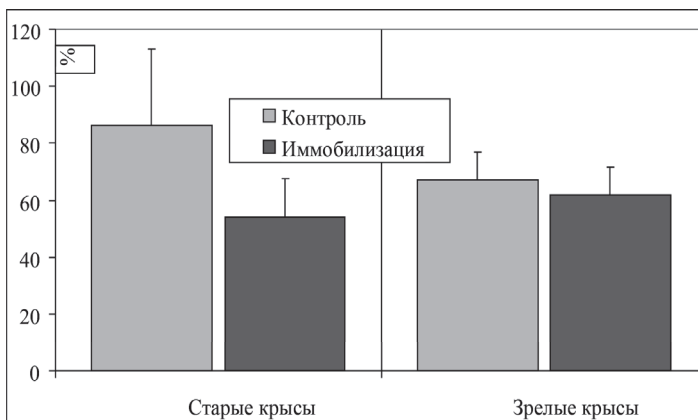


Рис. 21. Количество лимфоцитов у старых и зрелых крыс спустя 12 часов после иммобилизации

Таблица 6

Изменение количества лимфоцитов при иммобилизационном стресс-воздействии у животных разного возраста

Название групп	Воздействие 12 часов иммобилизации, исследования проводили спустя 12 часов после иммобилизации	
	Старые крысы (%)	Зрелые крысы (%)
Контроль	86,05 ± 27,03	67,09 ± 9,73
Опыт	54,13 ± 13,58	61,72 ± 9,76

Причиной большей выраженности лимфопении при стресс-реакции у старых животных является уменьшение с возрастом активности лимфоцитопоза.

Так как процессы пролиферации у зрелых животных более активны по сравнению со старыми животными, то это создает некое противодействие падению уровня лимфоцитов (лимфопении) при стресс-воздействии, в том числе и иммобилизационном (рис. 22).

По мнению некоторых авторов, весьма информативным приемом оценки стрессорной реакции периферической крови является расчет соотношения числа лимфоцитов к суммарному количеству

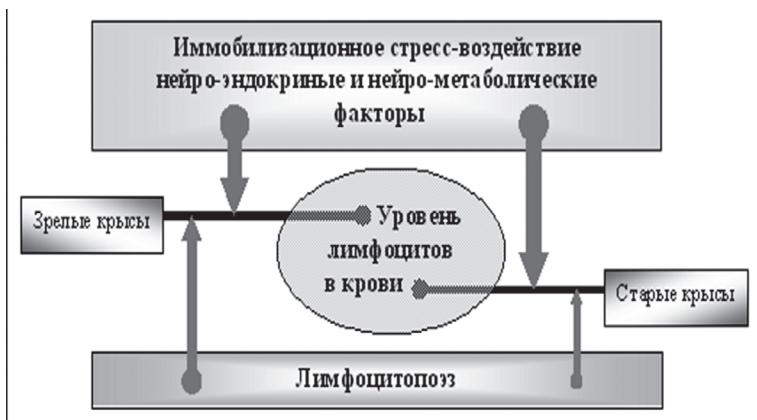


Рис. 22. Причины возрастного различия лимфоцитов при иммобилизационном стресс-воздействии

нейтрофилов (сегментоядерные + палочкоядерные) [36]. Такое соотношение описано в литературе как «лимфоцитарный индекс» [42; 98]. Если при каком-либо воздействии происходит сдвиг этого коэффициента в сторону его уменьшения, то это может служить свидетельством развития стресс-реакции.

После 12-часовой иммобилизации в периферической крови как старых, так и зрелых животных происходит достоверное уменьшение лейкоцитарного индекса (рис. 23). В среднем у старых и зрелых животных лимфоцитарный индекс периферической крови после стресс-воздействия понизился на 56,1% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем каждого возраста. Полученное падение индекса может служить дополнительным доказательством развития стресс-реакции на психоэмоциональное иммобилизационное стресс-воздействие.

Сравнение лимфоцитарного индекса в норме и при иммобилизации между старыми и зрелыми животными не показало какого-либо возрастного различия (рис. 23). У старых животных после стресс-воздействия лейкоцитарный индекс уменьшился на 58,9% ($p < 0,05$), у зрелых животных — на 53,4% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем каждого возраста (таблица 7).

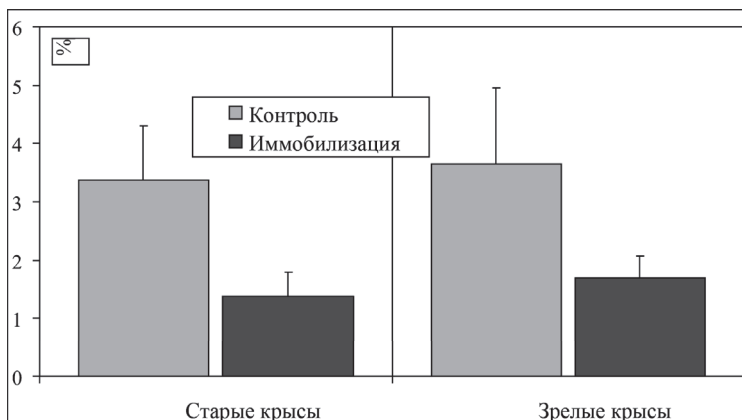


Рис. 23. Изменение лимфоцитарного индекса у старых и зрелых крыс спустя 12 часов после иммобилизации

Таблица 7

Изменение лимфоцитарного индекса при иммобилизационном стресс-воздействии у животных разного возраста

Название групп	Воздействие 12 часов иммобилизации, исследования проводили спустя 12 часов после иммобилизации	
	Старые крысы	Зрелые крысы
Контроль	$3,37 \pm 0,93$	$3,66 \pm 1,28$
Опыт	$1,38 \pm 0,40^*$	$1,70 \pm 0,36^*$

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой (одного возраста).

При возрастном анализе лейкоцитов (палочкоядерные и сегментоядерные) и лимфоцитов было отмечено падение активности пролиферации этих клеток у старых животных по сравнению со зрелыми. По всей видимости, это уменьшение активности пролиферации происходило в равной степени для всех из описанных выше клеток. Так как лимфоцитарный индекс — это арифметическое соотношение лимфоцитов к лейкоцитам, то однонаправленное и равномерное изменение количества этих клеток не будет приводить к изменению лимфоцитарного индекса. Это объясняет отсутствие

различия лимфоцитарного индекса между старыми и зрелыми животными в норме и при психоэмоциональном иммобилизационном стресс-воздействии.

Ряд авторов отмечают достоверное увеличение содержания моноцитов в крови при экстремальном стресс-воздействии на организм. Одной из важных причин данного феномена является снижение экспрессии $\beta 2$ -интегринов на моноцитах, что препятствует адгезии этих клеток к сосудистому эндотелию [303; 367; 509].

Психоэмоциональное иммобилизационное воздействие на животных старого и зрелого возраста привело к ожидаемому увеличению количества моноцитов в периферической крови (рис. 24). В среднем уровень моноцитов в периферической крови крыс увеличился на 68,2% ($p > 0,05$) по сравнению с контролем каждого возраста. По данным Волчегорского И. А. с соавт. (2000), у крыс после введения кеналога (2 мг/кг), стимулятора эндокринных проявлений стресс-реакции, доля моноцитов в периферической крови увеличилась на 354,4% ($p > 0,05$) по сравнению с контролем, что не противоречит нашим данным.

Возрастной анализ количества моноцитов в периферической крови показал большее содержание этих клеток у зрелых животных

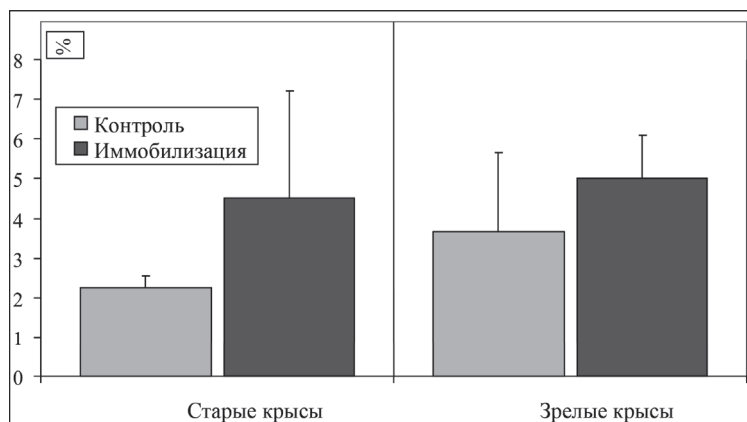


Рис. 24. Количество моноцитов у старых и зрелых крыс спустя 12 часов после иммобилизации

по сравнению со старыми в норме (больше на 62,9% при $p > 0,05$) и при иммобилизационном стресс-воздействии (больше на 11,1% при $p > 0,05$) (рисунок 24, таблица 8). Низкие значения количества моноцитов периферической крови у старых животных объясняются снижением с возрастом активности образования этих клеток и большим их сродством (адгезией) с сосудистым эндотелием.

Таблица 8

Изменение количества моноцитов при иммобилизационном стресс-воздействии у животных разного возраста

Название групп	Воздействие 12 часов иммобилизации, исследования проводили спустя 12 часов после иммобилизации	
	Старые крысы (%)	Зрелые крысы (%)
Контроль	$2,25 \pm 0,30$	$3,66 \pm 1,99$
Опыт	$4,50 \pm 2,70$	$5,00 \pm 1,09$

Моноциты связываются с эндотелием сосудов посредством лейкоцитарных белков адгезии. В настоящее время идентифицированы три гетеродимерных рецептора, участвующие в адгезии лейкоцитов; все они относятся к семейству интегринов [303; 367; 509]. Эти интегрины, особенно их β -субъединица, богаты цистеином с множеством внутрицепочечных дисульфидных связей. Известно, что свободные меркапто-группы цистеина при усилении процессов ПОЛ способны образовывать прочные ковалентные связи. С возрастом в организмах животных и человека происходит уменьшение активности антиокислительной системы, и вследствие этого в старых организмах любое экстремальное воздействие приводит к значительной активации ПОЛ. Усиление процессов ПОЛ у старых животных приводит к тому, что между поверхностью эндотелия сосудов и интегринными моноцитами происходит образование прочных ковалентных дисульфидных связей, что способствует более сильной адгезии моноцитов с эндотелием сосудов. Данный механизм может быть причиной низкого содержания моноцитов у старых животных в норме и при иммобилизационном стресс-воздействии (рис. 25).

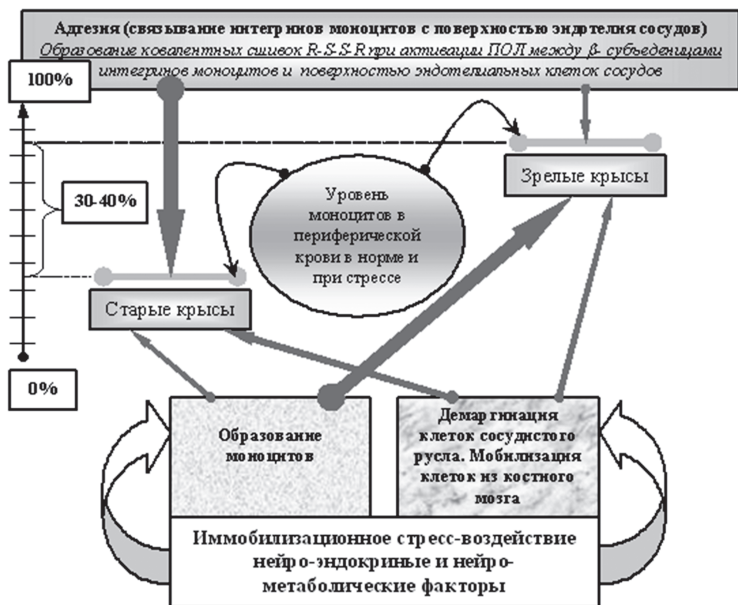


Рис. 25. Причины возрастного различия количества моноцитов в крови у старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

3.3.Состояние процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в миелокариоцитах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Костный мозг активно реагирует на любые экстремальные воздействия, в том числе и на иммобилизационное стресс-воздействие [50]. При этом в миелокариоцитах костного мозга происходят изменения в активности процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности (ПОЛ/АОА), и одновременно с этим происходят изменения в активности пролиферации. Процессы ПОЛ могут быть одними из контролирующих или пусковых механизмов деления клеток красного костного мозга [142].

3.3.1. Состояние процессов перекисного окисления липидов в миелокариоцитах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Изучение перекисного окисления липидов (ПОЛ) в миелокариоцитах зрелых и старых интактных крыс не выявило достоверных возрастных различий. При иммобилизационном стресс-воздействии в фазе шока (6-й час эксперимента) величина коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) в миелокариоцитах у крыс обоих возрастов достигала максимума (рисунок 26), у зрелых животных уровень ПОЛ увеличивался на 107,8% ($p<0,05$), у старых животных — на 73,0% ($p<0,05$) по сравнению с интактными (таблица 9).

Активность ПОЛ при стресс-воздействии на отдаленных сроках эксперимента (108-й час эксперимента) не возвращалась к норме. Уровень КПОЛ в миелокариоцитах на 108-м часу эксперимента у зрелых крыс был меньше на 51,5% ($p<0,05$), у старых — на 24,3% ($p>0,05$) по сравнению с контрольной группой. Кроме того, у зрелых крыс проявлялась тенденция к дальнейшему снижению КПОЛ

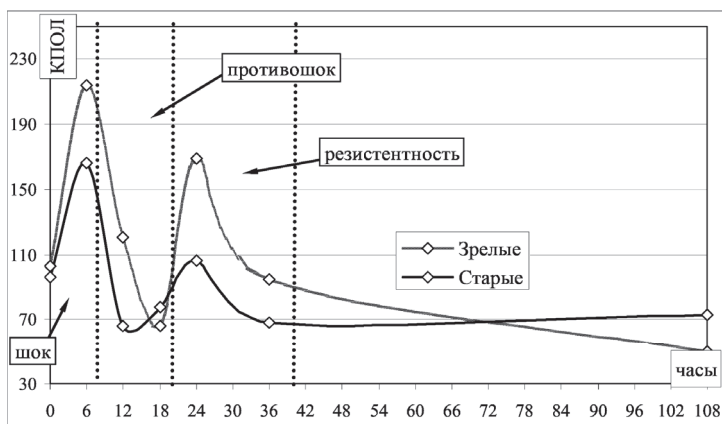


Рис. 26. Динамика коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) в миелокариоцитах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Таблица 9

**Изменения величины коэффициента перекисного окисления
липидов (КПОЛ,%) в миелокариоцитах зрелых и старых
крыс при иммобилизационном стресс-воздействии**

Воз- раст крыс	Конт- роль	Иммобилизация		Период после иммобилизации			
	0 часов	6 часов	12 часов	18 часов	24 часа	36 часов	108 часов
	Время от начала эксперимента						
Зрелые	103,0 ± 24,5	214,1 ± 50,7**	120,9 ± 37,9	66,2 ± 6,9**	169,2 ± 39,8**	94,9 ± 28,2	49,9 ± 7,9**
Старые	96,0 ± 17,0	166,0 ± 38,6**	66,3 ± 29,4	77,8* ± 2,1**	106,0* ± 24,6	68,3 ± 14,8	72,7* ± 10,1

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении двух возрастов;

** — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой (одного возраста).

в миелокариоцитах (рис. 26). Возможно, это связано с активацией АОА, а именно с увеличением количества антиокислительных ферментов (каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза и редуктаза).

При сравнении графика изменения КПОЛ миелокариоцитов с графиком изменения КПОЛ периферической крови у крыс при иммобилизационном стресс-воздействии обнаружилось сходство в динамике этих процессов (рис. 13, 26). Корреляционный анализ данных между КПОЛ крови и КПОЛ миелокариоцитов (коэффициент корреляции составил 0,61, $p < 0,05$) выявил взаимосвязь между этими показателями, демонстрируя возможное участие миелокариоцитов в активации процессов ПОЛ в периферической крови крыс при иммобилизационном стресс-воздействии (рис. 27).

При изучении процессов ПОЛ в миелокариоцитах костного мозга на фоне иммобилизационного стресс-воздействия были получены данные, подтверждающие изменение коэффициента ПОЛ в соответствии со стадиями стресс-реакции (рис. 26). Это совпадает с представлениями о стадиях развития общего адаптационного

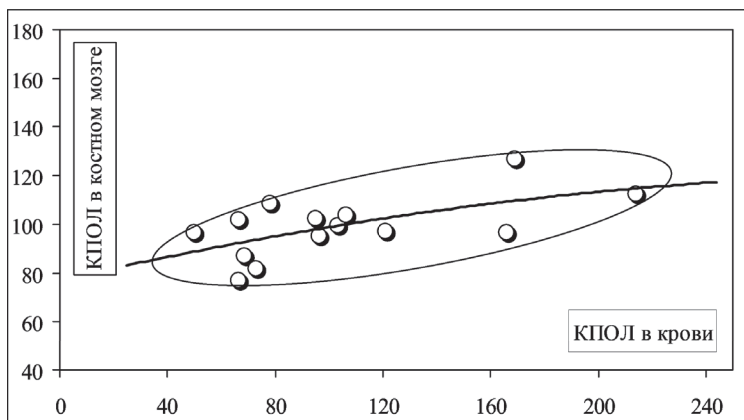


Рис. 27. Корреляционная зависимость между коэффициентом перекисного окисления липидов (КПОЛ) крови и миелокариоцитов у крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

синдрома (шок, противошок (тревога), резистентность, истощение) [191]. Миелокарициты костного мозга аналогично периферической крови реагировали на иммобилизационное стресс-воздействие, что подтверждается положительной корреляцией (коэффициент 0,61 при $p < 0,05$) между КПОЛ крови и миелокариоцитов (рис. 27). Уровень ПОЛ в миелокарицитах на всех стадиях стресс-реакции был выше, чем в периферической крови. Клетки костного мозга опосредованно через регуляторные системы организма (нервную, гуморальную или нейромедиаторную) раньше реагировали на экстремальное воздействие по сравнению с периферической кровью [190; 243].

При изучении процессов ПОЛ в миелокарицитах на фоне иммобилизационного стресс-воздействия были получены данные, подтверждающие фазное изменение КПОЛ (рис. 26). Уровень ПОЛ в миелокарицитах зрелых крыс при развитии стадий стресс-реакции (шок, противошок, резистентность) был больше, чем у старых крыс, что, возможно, связано с более высокой интенсивностью пролиферации клеток [142; 246].

3.3.2. Состояние процессов перекисного окисления липидов в межклеточной среде костного мозга у зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

У интактных зрелых и старых крыс в межклеточной жидкости костного мозга возрастных различий величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) обнаружено не было. Максимальное значение величины КПОЛ в межклеточной среде (МС) костного мозга зрелых и старых крыс наблюдалось в конце стадии тревоги и в начале стадии резистентности (18–24 час эксперимента) (рис. 28). У старых крыс (18 час эксперимента) уровень КПОЛ в МС костного мозга увеличился на 77,1% ($p<0,05$), у зрелых крыс (24 час эксперимента) увеличился на 53,9% ($p<0,05$) по сравнению с контролем (таблица 10). При изучении уровня КПОЛ в МС костного мозга зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии изменения величины КПОЛ происходили в соответствии со стадиями стресс-реакции (шок, противошок (тревога), резистентность) и были аналогичны изменениям величины КПОЛ в миелокариоцитах при тех же условиях (рис. 26).

Таблица 10

Изменение величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ%) в межклеточной жидкости костного мозга зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Возраст крыс	Контроль	Иммобилизация		Период после иммобилизации			
	0 часов	6 часов	12 часов	18 часов	24 часа	36 часов	108 часов
	Время от начала эксперимента						
Зрелые	95,3 ± 21,8	104,1 ± 33,4	71,2 ± 3,0	85,1* ± 16,7	168,7** ± 41,6	51,6** ± 6,4	87,0 ± 11,0
Старые	95,1 ± 11,4	88,6 ± 8,6	108,9 ± 37,7	146,4** ± 25,9	131,1** ± 23,5	66,6** ± 9,5	71,5 ± 15,9

Примечание: * — $p<0,05$ при сравнении двух возрастов;
 ** — $p<0,05$ при сравнении с контрольной группой.

Величина КПОЛ в МС костного мозга была несколько выше, чем величина КПОЛ в миелокариocyтах, причем все изменения КПОЛ в МС происходили раньше, с опережением на 6 часов, чем непосредственно в миелокариocyтах. Этот факт, по нашему мнению, свидетельствует о том, что при иммобилизационном стресс-воздействии первичные изменения уровня ПОЛ происходили не в клетках, а в их окружении (межклеточная среда, капилляры, нервные волокна и их окончания). Первоначальное увеличение ПОЛ в межклеточной жидкости могло вызывать увеличение ПОЛ в миелокариocyтах костного мозга с последующим усилением гемопоэза и выходом в кровь ретикулоцитов [142; 242; 243].

У старых крыс в МС костного мозга максимальное значение КПОЛ наблюдалось через 6 часов после иммобилизационного стресс-воздействия (фаза тревоги, 18-й час эксперимента) (рис. 28), тогда как в миелокариocyтах максимум КПОЛ приходился на более поздний срок — 12 часов после стресс-воздействия (фаза резистентности, 24-й час эксперимента) (рис. 26) — и его величина была меньше в 1,3 раза. Это подтверждает высказанное выше мнение об участии межклеточной жидкости костного мозга в активации процессов ПОЛ в миелокариocyтах при экстремальном воздействии.

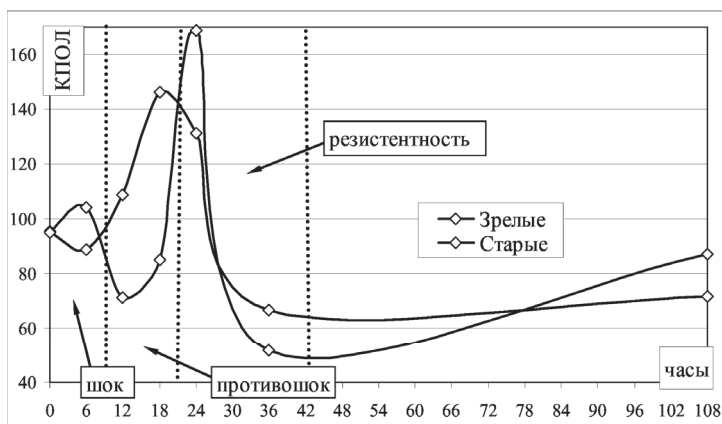


Рис. 28. Динамика коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) в межклеточной среде костного мозга зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

У зрелых крыс, в отличие от старых, величина КПОЛ в МС костного мозга ($168,7 \pm 41,7$) была приблизительно равна величине КПОЛ в миелокариocyтах ($169,2 \pm 39,8$), и все изменения КПОЛ в МС происходили одновременно с изменениями КПОЛ в миелокариocyтах, достигая максимума в фазе резистентности (таблицы 9, 10).

Таким образом, у крыс зрелого возраста ответная реакция миелокариocyтов на увеличение уровня ПОЛ в МС костного мозга происходила синхронно, у крыс старого возраста эта ответная реакция была медленнее и запаздывала на 6 часов. Но как у старых, так и у зрелых животных имело место влияние МС костного мозга на изменение интенсивности процессов ПОЛ в миелокариocyтах при иммобилизационном стресс-воздействии.

Корреляционный анализ уровня ПОЛ в миелокариocyтах и МС костного мозга подтвердил наличие связи между этими костно-мозговыми компонентами, коэффициент корреляции составил 0,61 ($p < 0,05$); активация процессов ПОЛ в МС костного мозга влияла на интенсивность ПОЛ в миелокариocyтах.

Центральная нервная система (ЦНС) одна из первых реагирует на любые экстремальные воздействия окружающей среды. Периферическая нервная система, объединяющая центральную нервную систему и органы, участвует в реализации реакций при стрессовых воздействиях. Поэтому возможно, что изменения уровня ПОЛ в ЦНС при стресс-воздействии вызывают аналогичные изменения в периферической нервной системе. Можно предположить, что изменения активности ПОЛ в ЦНС при психоэмоциональном стресс-воздействии могли индуцировать процессы ПОЛ в нервах и нервных окончаниях вегетативной нервной системы, входящих в состав МС костного мозга. Из этого следует, что активатором процессов ПОЛ в костном мозге при стресс-воздействии может служить увеличение интенсивности ПОЛ в МС костного мозга за счет активации ПОЛ в нервах и нервных окончаниях вегетативной нервной системы, входящих в состав МС костного мозга (рис. 29).

Изучение динамики ПОЛ в межклеточной среде костного мозга при экстремальном воздействии показало прямую зависимость с изменениями динамики ПОЛ в миелокариocyтах (рис. 26, 28). В межклеточной среде костного мозга (межклеточная жидкость, сосуды,



Рис. 29. Возможное участие центральной нервной системы (ЦНС) в активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в костном мозге при иммобилизационном стресс-воздействии

нервные волокна и их окончания, клетки соединительной ткани) происходили первоначальные изменения интенсивности процессов ПОЛ, вызванные иммобилизационным стресс-воздействием, затем изменения ПОЛ передавались на миелокариocyты красного костного мозга и в заключение — на периферическую кровь (рис. 29).

3.3.3. Участие процессов перекисного окисления липидов в изменении количества ретикулоцитов в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Одной из реакций костного мозга на экстремальное воздействие служит изменение соотношения различных популяций делящихся и дифференцирующихся клеток, входящих в его состав [8; 56; 128; 225; 242]. Эти изменения, вероятно, протекают в костном мозге двумя путями:

первый — перераспределение или миграция уже набработанных и дифференцированных клеток крови из костного мозга;

второй — усиление пролиферации клеток одного типа и угнетение пролиферации клеток другого типа. Все это приводит к изменению в периферической крови состава специализированных клеток при возникновении условий повышенной потребности в них.

При изучении количества ретикулоцитов в крови интактных крыс достоверных возрастных различий обнаружено не было, выявилась лишь тенденция к более высоким показателям количества ретикулоцитов в крови зрелых крыс по сравнению со старыми крысами (рис. 30).

На фоне иммобилизационного стресс-воздействия количество ретикулоцитов, характеризующих морфофункциональное состояние костного мозга, изменялось в крови согласно стадиям стресс-реакции (рис. 30). На ранней стадии развития стресса (тревога) изменение количества ретикулоцитов было связано с миграцией клеток из костного мозга в кровь, на последующих этапах с усилением пролиферации в клетках красного костного мозга [129; 147; 175].

Через 12 часов иммобилизационного стресс-воздействия, в фазе шока, у зрелых крыс количество ретикулоцитов увеличилось на 76,1%

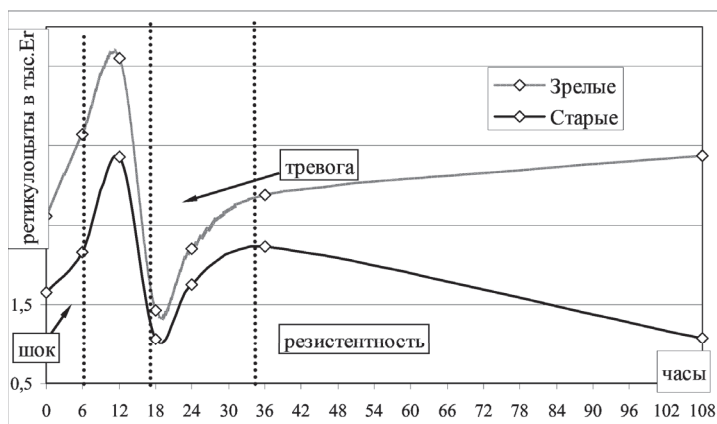


Рис. 30. Динамика количества ретикулоцитов (на тыс. эритроцитов — Эр) в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

($p>0,05$), у старых крыс — на 102,8% ($p<0,05$) по сравнению с контролем (таблица 11). По мере дальнейшего развития адаптационного синдрома с наступлением фазы противошока количество ретикулоцитов в крови понижалось. Спустя 6 часов после окончания иммобилизационного стресс-воздействия (18-й час эксперимента) количество ретикулоцитов в крови у зрелых крыс понижалось на 45,1% ($p<0,05$), у старых крыс — на 35,5% ($p>0,05$) по сравнению с контролем (таблица 11). Обнаруженное снижение количества ретикулоцитов на границе фаз тревога-резистентность можно связать с их созреванием в крови и уменьшением их резерва в красном костном мозге вследствие их миграции в периферическую кровь [56; 128; 225].

В начале стадии резистентности (24-й час эксперимента) происходило второе увеличение содержания ретикулоцитов в крови крыс при иммобилизационном стресс-воздействии (рис. 30). Это можно связать с наступлением периода долгосрочной адаптации. В этом периоде поддержка гомеостаза организма осуществлялась не за счет накопленных резервов организма, а за счет синтетических процессов, связанных с изменением в работе генетического аппарата и делением клеток.

По данным Меерсона Ф.З. с соавт. (1988) [130], при 6-часовой иммобилизации у крыс происходило двухфазное изменение репаративного синтеза ДНК. В период с 6 до 24 часов от начала стресс-воздействия

Таблица 11

Изменение количества ретикулоцитов (на тыс. эритроцитов) в крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Воз- раст крыс	Конт- роль	Иммобилизация		Период после иммобилизации			
	0 часов	6 часов	12 часов	18 часов	24 часа	36 часов	108 часов
	Время от начала эксперимента						
Зрелые	26,2 ± 7,8	36,5* ± 10,3	46,1 ± 17,5	14,4* ± 2,7**	22,1 ± 4,1	28,8 ± 11,5	33,8* ± 9,6
Старые	16,6 ± 6,1	21,6 ± 0,6	36,1 ± 7,9**	10,7 ± 0,9	17,5 ± 3,1	22,3 ± 9,1	10,8 ± 4,5

Примечание: * — $p<0,05$ при сравнении двух возрастов;
** — $p<0,05$ при сравнении с контрольной группой.

в печени и почках активность репаративного синтеза ДНК достигала максимальных значений, а на вторые сутки нормализовалась (рис. 31). Используя эти данные, можно объяснить полученное увеличение количества ретикулоцитов в периферической крови при иммобилизационном стресс-воздействии (20–60-й час эксперимента) (рис. 30).

Спустя 12 часов от начала эксперимента количество ретикулоцитов у зрелых животных увеличилось на 10,3% ($p > 0,05$), у старых животных — на 34,8% ($p > 0,05$) по сравнению с контролем. При сравнении этих же показателей с 6-м часом от начала эксперимента, когда количество ретикулоцитов минимально, у зрелых крыс их содержание увеличилось на 100,7% ($p < 0,05$), у старых крыс — на 109,1% ($p < 0,05$) (таблица 11).

Возможной причиной повышения количества ретикулоцитов может быть увеличение репаративного синтеза ДНК в организме в период с 6-го по 24-й час эксперимента (рис. 31). Репаративный синтез ДНК в организме крыс при иммобилизационном стресс-воздействии явился ответной реакцией клеток на увеличение повреждений в их структурах (в том числе и в ядре), вызванных усилением процессов ПОЛ [130; 131]. В течение 6 часов иммобилизационного

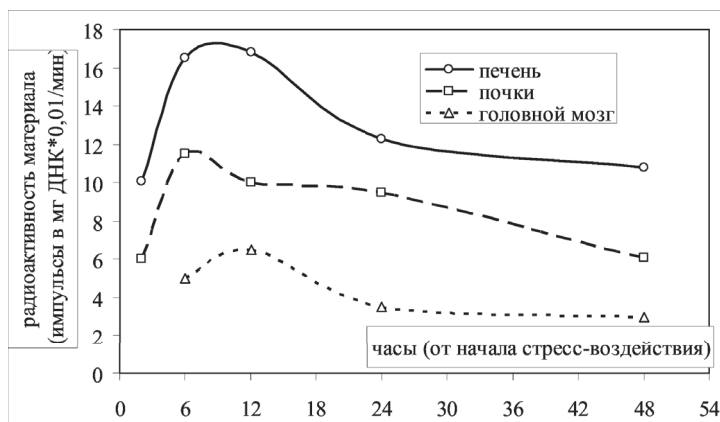


Рис. 31. Динамика репаративного синтеза ДНК при иммобилизационном стрессе (по данным Меерсона Ф.З., Пшенниковой М.Г., 1988) [130]

стресс-воздействия, предшествующих увеличению репаративного синтеза ДНК, в костном мозге наблюдалась активация процессов ПОЛ (рис. 26, таблица 9). Усиление репаративного синтеза ДНК, особенно в тканях с высокой пролиферацией (костный мозг, эпителиальные клетки и т.д.), могло приводить к активации деления ДНК, сопровождающейся в дальнейшем активацией деления клеток. При репарации большая часть ядерной ДНК, в нормальных условиях недоступная для ферментов из-за белков хроматина, начинала освобождаться и становиться доступной для транскрипции и репликации ДНК, что могло быть причиной деления клетки. Этот процесс мог быть пусковым механизмом, активирующим деление клеток при экстремальном воздействии, и, в частности, при увеличении количества ретикулоцитов в стадии резистентности при стресс-воздействии.

При сравнении динамики количества ретикулоцитов в крови между старыми и зрелыми крысами (рис. 30) можно видеть, что на протяжении всего эксперимента количество ретикулоцитов в периферической крови зрелых крыс преобладало над аналогичными показателями у старых крыс. У зрелых крыс усредненное по всем стадиям стресс-реакции количество ретикулоцитов было больше на 69,4% ($p=0,0012$) по сравнению со старыми крысами (таблица 11). Корреляционный анализ интенсивности процессов ПОЛ миелокариоцитов и количества ретикулоцитов в периферической крови крыс продемонстрировал наличие между этими показателями прямой зависимости (коэффициент корреляции составил 0,73, $p<0,01$) (рис. 32).

Как было отмечено выше, у зрелых крыс в костном мозге усредненный по всем стадиям стресс-реакции КПОЛ был на 25,3% ($p=0,056$) (таблица 9) больше, чем у старых крыс (рис. 26). У старых крыс с возрастом происходило уменьшение роли процессов ПОЛ в инициации процессов деления клеток, коэффициент корреляции количества ретикулоцитов и КПОЛ костного мозга у зрелых крыс больше на 42,9% по сравнению со старыми крысами (коэффициент корреляции у зрелых крыс 0,69 ($p>0,05$), у старых крыс — 0,48 ($p>0,05$). Высокая интенсивность процессов ПОЛ в костном мозге у зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии могла обеспечивать более высокую, по сравнению со старыми крысами, пролиферативную активность

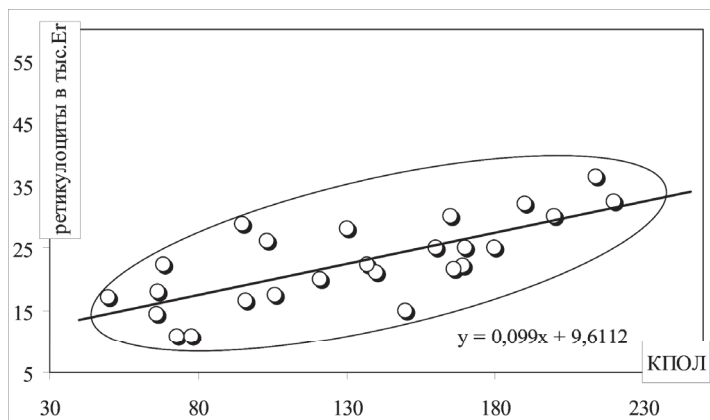


Рис. 32. Корреляционная зависимость между количеством ретикулоцитов в крови и коэффициентом перекисного окисления липидов (КПОЛ) в костном мозге у крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

клеток, что повлекло за собой быстрое возрастание количества ретикулоцитов в крови и тем самым ускорило процессы адаптации организма.

Сравнивая динамику количества ретикулоцитов в крови при иммобилизационном стресс-воздействии между зрелыми и старыми крысами, было выяснено, что с возрастом происходит уменьшение роли процессов ПОЛ в делении клеток костного мозга. Высокая интенсивность процессов ПОЛ в костном мозге зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии обеспечивает более высокую, по сравнению со старыми крысами, пролиферативную активность, что в итоге может приводить к увеличению количества ретикулоцитов в крови.

Увеличение интенсивности процессов ПОЛ в миелокариоцитах костного мозга на ранних стадиях стресс-реакции повышает уровень повреждений в мембранных структурах клеток [224]. Дополнительно к этому может наблюдаться оксидативное повреждение клеточных белковых комплексов и генетического аппарата клетки [5], что сопровождается усилением в работе репаративных механизмов, в том числе и механизмов репарации ДНК [131; 132; 149]. Для того чтобы поврежденные участки ДНК стали более доступны репаративным ферментам, они должны освободиться от ДНК-связывающих белков и их комплексов. Это увеличи-

вает доступ к освобожденной спирали ДНК различных специфических ферментных систем, которые контролируют работу внутриядерных механизмов. Такая активация ДНК может дополнительно приводить к активации механизмов синтеза мРНК и образованию репликативных «вилков», приводящих к удвоению ДНК, делению ядра и всей клетки [130; 132; 149]. Таким образом, активация ПОЛ в костном мозге приводит к усилению активности пролиферации, сопровождающейся увеличением количества ретикулоцитов в периферической крови (рис. 32).

3.2.4. Участие фосфолипазы A2 в изменении интенсивности процессов перекисного окисления липидов миелокариоцитов костного мозга зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Изучение активности фермента фосфолипазы A2 (ФЛА2) в миелокариотах интактных зрелых и старых крыс не показало между ними статистически достоверного различия. Было отмечено, что в миелокариотах старых крыс с возрастом наблюдалась незначительная тенденция к увеличению активности ФЛА2.

Увеличение активности фермента ФЛА2 при стресс-воздействии являлось одним из механизмов, приводящим к активации ПОЛ в тканях организма. Изменение активности ФЛА2 в миелокариотах у зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии происходило в соответствии со стадиями стресса (шок, противошок (тревога), резистентность). Максимальная активность ФЛА2 у крыс обоих возрастов приходилась на конец стадии тревоги и начало стадии резистентности (18-й час эксперимента) (рис. 33). У зрелых и старых крыс динамика изменения активности ФЛА2 миелокариоцитов соответствовала динамике КПОЛ в межклеточной среде костного мозга (рис. 28). Таким образом, у крыс при иммобилизационном стресс-воздействии фермент ФЛА2 в некоторой степени способствовал увеличению активности ПОЛ в миелокариотах. Увеличение активности фермента ФЛА2 могло приводить к увеличению количества субстрата для ПОЛ (свободные жирные кислоты), в результате чего повышалась активность ПОЛ с выходом конечных продуктов (малоновый диальдегид, гидроперекиси, диеновые конъюгаты).

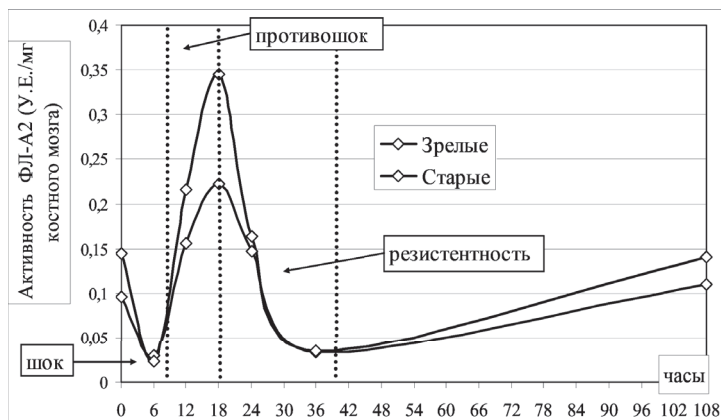


Рис. 33. Динамика активности фосфолипазы А2 в миелокариocyтах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

У старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии активность ФЛА2 миелокариocyтов в конце фазы тревоги (18-й час эксперимента) была больше на 138,2% ($p < 0,05$), у зрелых — на 131,0% ($p = 0,057$) по сравнению с контролем одного возраста (таблица 12). Примерно в это же время (18-й час эксперимента)

Таблица 12

Изменение активности фосфолипазы А2 (ФЛА2, У.Е./мг) в миелокариocyтах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Возраст крыс	Контроль	Иммобилизация		Период после иммобилизации			
	0 часов	6 часов	12 часов	18 часов	24 часа	36 часов	108 часов
	Время от начала эксперимента						
Зрелые	0,096 ± 0,041	0,030** ± 0,018	0,156* ± 0,030	0,223* ± 0,089	0,147** ± 0,006	0,033** ± 0,009	0,110 ± 0,015
Старые	0,145 ± 0,014	0,023** ± 0,006	0,216** ± 0,028	0,345 ± 0,015	0,164 ± 0,029	0,034** ± 0,005	0,140 ± 0,107

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении двух возрастов;
 ** — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

в межклеточной среде костного мозга уровень ПОЛ также достигал максимума (таблица 10), и только через 6 часов максимум ПОЛ наступал в клетках костного мозга (таблица 9).

При иммобилизационном стресс-воздействии активность ФЛА2 в первую очередь усиливалась в межклеточной среде костного мозга, где и происходила первоначальная активация ПОЛ. В дальнейшем активность фосфолипазы А2 увеличивалась в клетках костного мозга (гемопоэтические клетки стромы, адипоциты), где под влиянием фермента ФЛА2 также могла происходить активация процессов ПОЛ, с последующим усилением деления клеток и увеличением в крови количества ретикулоцитов.

3.2.5. Состояние антиокислительной активности в миелокариоцитах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Исследование коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в миелокариоцитах интактных зрелых и старых крыс не показало между ними статистически достоверного возрастного отличия. В организме интактных крыс изменения антиокислительной активности (АОА) с увеличением возраста происходили незначительно, но под влиянием патологического фактора (иммобилизационное стресс-воздействие) возрастные различия в активности антиокислительной системы (АОС) начинали проявляться (рис. 34, таблица 13).

Известно, что состояние антиокислительной системы организма зависит от изменений в интенсивности процессов ПОЛ [118; 126; 254], то есть интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) влияет на активность АОС. При сравнении между собой величины КАОА и КПОЛ миелокариоцитов можно отметить, что на всех стадиях развития стресс-реакции между ними наблюдалась обратно пропорциональная зависимость, коэффициент корреляции составил 0,52 ($0,07 > p > 0,05$). Установленная корреляционная зависимость свидетельствует о том, что система антиокислительной активности могла участвовать в регуляции процессов ПОЛ, но наличие обратной зависимости говорит о том, что изменения антиокислительной системы отстают во времени от изменений

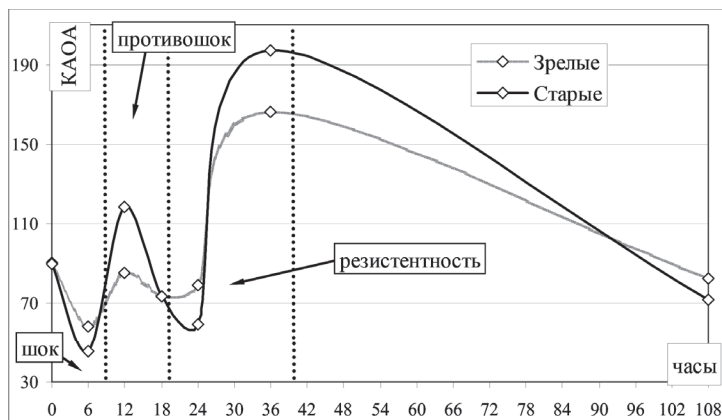


Рис. 34. Динамика коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в миелокариocyтах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Таблица 13

Изменения величины коэффициента антиокислительной активности (КАОА%) в миелокариocyтах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Воз- раст крыс	Кон- троль	Иммобилизация		Период после иммобилизации			
	0 часов	6 часов	12 ча- сов	18 ча- сов	24 часа	36 ча- сов	108 ча- сов
	Время от начала эксперимента						
Зрелые	90,4 ± 7,3	58,4 ± 26,1	84,9 ± 25,7	73,0* ± 8,6	78,8 ± 34,8	166,2* ± 36,0	82,1 ± 30,7
Старые	89,4 ± 10,0	45,1* ± 18,1	118,1 ± 52,7	73,2 ± 17,9	59,1* ± 13,3	197,1* ± 37,3	71,8 ± 41,0

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

в системе ПОЛ. Можно предположить, что первоначально происходили изменения в системе ПОЛ, которые впоследствии приводили к аналогичным изменениям в системе АОА. При этом вели-

чина КПОЛ миелокариоцитов крыс под действием АОС изменялась в 1,5–2 раза (таблица 9).

При сравнении динамики КПОЛ (рис. 26) и КАОА миелокариоцитов (рис. 34) видно, что в начальных этапах развития стресс-реакции (шок, противошок) изменения КАОА не так значительны, как аналогичные изменения КПОЛ. Наличие обратной зависимости между КАОА и КПОЛ в миелокариоцитах крыс при стрессе может свидетельствовать о некотором отставании во времени изменений АОА. В стадии резистентности (24–36-й час эксперимента) ситуация изменяется, и величина КАОА в миелокариоцитах значительно возрастала: у зрелых животных в этой стадии стресса КАОА увеличился на 83,8% ($p < 0,05$), у старых животных — на 120,6% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (таблица 13).

Такая динамика КАОА в миелокариоцитах, возможно, связана с увеличением доли участия в процессах стресс-реакции как ферментативной, так и неферментативной АОС. В начале фазы резистентности (20–24-й час эксперимента) при инициации в миелокариоцитах механизмов долговременной адаптации происходило увеличение активности как антиокислительных ферментов (АОФ), так и неферментативных антиоксидантов (рис. 35). У зрелых животных в стадию резистентности (18–36-й час эксперимента) в миелокариоцитах ферментативная АОА повышалась на 10,3% ($p > 0,05$) по сравнению с неферментативной АОА. У старых крыс ферментативная АОА повышалась на 49,7% ($p < 0,05$) по сравнению с неферментативной АОА. Это свидетельствует об уменьшении с возрастом доли вклада в общий антиокислительный статус костного мозга неферментативных антиоксидантов и восполнении их недостатка увеличением синтеза антиокислительных ферментов [26; 35; 89].

Активация ПОЛ в миелокариоцитах при стрессе приводила к последующей активации АОА: на ранней стадии стресс-реакции (тревога — шок, противошок) была задействована неферментативная АОС, на последующих стадиях происходила активация ферментативной АОС (рис. 34, 35). Изменения АОА в миелокариоцитах при стрессе носили стадийный характер (шок, противошок, резистентность) и находились в обратной зависимости от интенсивности ПОЛ. По-видимому, в данном случае первоначально изменялась

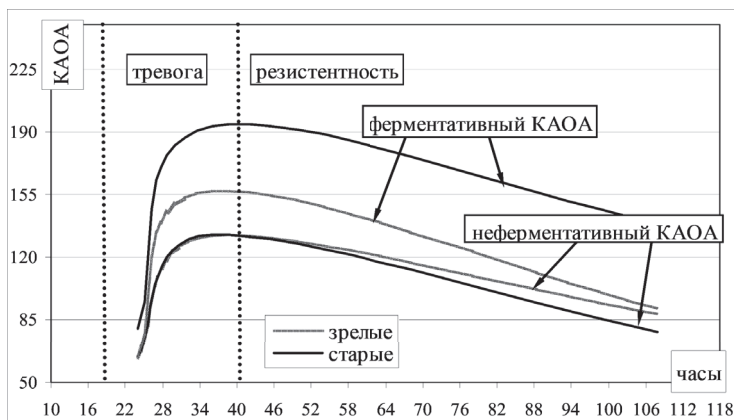


Рис. 35. Сравнительная динамика ферментативного и неферментативного коэффициентов антиокислительной активности (КАОА %) в миелокариocyтах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

интенсивность процессов ПОЛ, впоследствии приводящая к ответным изменениям в системе АОА.

Возрастные различия изменения АОА в миелокариocyтах появлялись только в фазе резистентности, у старых крыс в этой фазе интенсивность АОА была больше на 30,9% ($p > 0,05$) по сравнению со зрелыми крысами. Увеличение АОА у старых животных в фазе резистентности было связано с увеличением активности ферментов с антиокислительными свойствами (рис. 35).

Для дальнейшего изучения изменений в системе ПОЛ/АОА наиболее рационально исследовать период от окончания стадии тревоги (фаза противошока) к переходу на стадию резистентности — это соответствует 12 часам после иммобилизационного стресс-воздействия. На этой стадии (окончание стадии тревоги и начало стадии резистентности) происходила активация адаптационных механизмов с началом синтеза антиокислительных ферментов.

Таким образом, общий характер изменения системы ПОЛ и АОА миелокариocyтов при иммобилизационном стресс-воздействии в большинстве изученных сроков соответствовал изменениям ПОЛ

и АОА в периферической крови. Полученные данные по динамике КПОЛ позволяют предположить, что изменения ПОЛ в костном мозге на начальных этапах развития стресс-реакции происходят сильнее и раньше, чем в периферической крови, а значит, они могут находиться под контролем более активно реагирующей на экстремальные воздействия нервной системы. На последующих этапах развития стресс-реакции контроль над процессами ПОЛ в костном мозге осуществлялся совместно с ферментативной и неферментативной АОС.

В заключение можно отметить, что процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности (АОА) в организме крыс зрелого и старого возраста при иммобилизационном стресс-воздействии изменялись в зависимости от стадий стресс-реакции. Изменения величины интегрального коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в системе крови крыс находились в противофазе к изменениям величины интегрального коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ). В стадии тревоги при развитии стресс-реакции в большей степени функционировала неферментативная антиокислительная система (АОС), в последующих стадиях активировалась ферментативная АОС.

С увеличением возраста изменения ПОЛ в системе крови старых крыс происходили на несколько часов раньше и были менее значимы по величине, чем у зрелых крыс. У крыс старого возраста при иммобилизационном стресс-воздействии уменьшалось влияние неферментативных антиоксидантов на общую АОА системы крови, при этом активность антиокислительных ферментов компенсаторно усиливалась.

Увеличение КПОЛ в периферической крови крыс при иммобилизационном стресс-воздействии приводило к приросту ретикулоцитов в периферической крови, что подтверждалось наличием между ними прямой корреляционной зависимости. Это могло быть связано с миграцией ретикулоцитов из костного мозга в кровь на начальных стадиях стресса, а в дальнейшем — активацией процессами ПОЛ пролиферации эритроидного ростка костного мозга. С увеличением возраста при стрессе происходило уменьшение активности костного мозга, выражающееся в ретикулоцитопении, что могло быть связано с возраст-зависимым уменьшением величины КПОЛ в миелокариocyтах.

ГЛАВА 4.

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКИСЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ ПЕЧЕНИ У ЗРЕЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕСС-ВОЗДЕЙСТВИИ, ЧАСТИЧНОЙ ГЕПАТЭКТОМИИ И КОРРЕКЦИИ ЭТИХ СОСТОЯНИЙ НЕЙРОМЕДИАТОРАМИ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Многие исследователи сходятся во мнении, что возрастные изменения соотношения прооксидантных и антиоксидантных процессов в организме связаны с нарушениями работы митохондриальной дыхательной цепи, продуцирующей основное количество радикалов кислорода [5; 98; 100; 142; 255; 437; 461; 517; 528]. Поэтому представляется целесообразным изучать связь перекисного окисления липидов (ПОЛ) и старения на субклеточном уровне, особенно митохондриальном. Однако целостное представление об этой проблеме далеко от завершения.

Процесс регенерации печени животных подробно описан в литературе, как и его гистологические и цитологические особенности, связанные со старением [17; 22; 30; 54; 251; 348; 442; 447]. Однако взаимное влияние процессов ПОЛ и регенерации в печени животных продолжает интересовать исследователей [251; 275; 369; 447; 476], а возрастной аспект данного влияния слабо освещен в литературе [339]. Репаративная регенерация, как правило, сопровождается изменением уровня ПОЛ и АОЗ [5; 447]. Кроме того, известна зависимость скорости репаративной регенерации и процессов старения [17; 124; 245]. В качестве элементарной формы проявления репаративной регенерации на субклеточном уровне можно рассматривать мембраногенез. Оценить значение перекисного окисления липидов для образующихся мембран субклеточных органелл регенерирующего органа невозможно без оценки фосфолипидного обмена в этих мембранах, что не нашло достаточного освещения в научной литературе.

Известно, что адрено- и холинэргическая вегетативная нервная система является одним из ключевых игроков в реализации стресс-реакции организма на уровне всех систем и органов при иммобилизационном стресс-воздействии [3; 47; 124; 242]. Воздействие через психоэмоциональную активацию вегетативной нервной системы запускает в организме серию процессов с развитием стресс-реакции. Опосредованно через гормоны и нейромедиаторы вегетативная нервная система действует на внутренние системы и органы с изменением их катаболизма и анаболизма [216; 218; 222].

4.1. Изменения показателей перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в субклеточных фракциях печени у зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Нарушение сбалансированного взаимодействия про- и антиокислительных процессов при старении и стресс-реакции играет важную роль как в прогрессировании возрастных изменений, так и в развитии возраст-зависимых изменений в клеточных и субклеточных структурах [5; 149; 157]. Изучать связь ПОЛ и старения наиболее целесообразно на субклеточном уровне, рассматривая взаимодействие различных клеточных элементов, особенно выделяя митохондрии как основной источник активных форм кислорода для инициации ПОЛ [39; 278; 345; 449] и как первую мишень для разрушительного действия ПОЛ [93; 205; 240; 263; 395].

На рисунке 36 изображена общая схема нарушения работы митохондрий под действием ПОЛ, где показано одновременное участие двух самоускоряющихся процессов, ведущих к гибели клетки. ПОЛ нарушает избирательную проницаемость мембран для ионов H^+ (или OH^-) и ионов Ca^{2+} . Повышение проницаемости для ионов H^+ и разобщение клеточного дыхания приводит к развитию энергодифицита и нарушению работы систем АОА, что способствует еще большей активации ПОЛ [93]. Избыточная активация фосфолипазы А2 ионами кальция и дальнейшее нарушение ею барьерных свойств липидного бислоя вызывает еще больший рост уровня кальция в цитоплазме [32; 33]. Образуется своеобразный порочный круг,

результатом которого становится набухание и гибель митохондрий, а после и клетки (рис. 36).

В то же время известно, что гидролиз окисленных фосфолипидов под действием фосфолипазы A2 происходит значительно быстрее, чем в случае неокисленных молекул [77; 377; 399]. Более того, подтверждена способность фосфолипазы A2 проявлять активность при наличии продуктов ПОЛ даже при отсутствии Ca^{2+} [205]. Фермент выборочно удаляет из субстратной среды уже окисленные молекулы жирных кислот, способные инициировать дальнейшие процессы ПОЛ.

Изучение процессов ПОЛ становится невозможным без учета метаболизма его субстратов — фосфолипидов. Роль метаболизма фосфолипидов важна еще и потому, что они определяют физические свойства клеточных мембран [300; 390], а именно мембраногенез представляет собой элементарную форму репаративной реген-

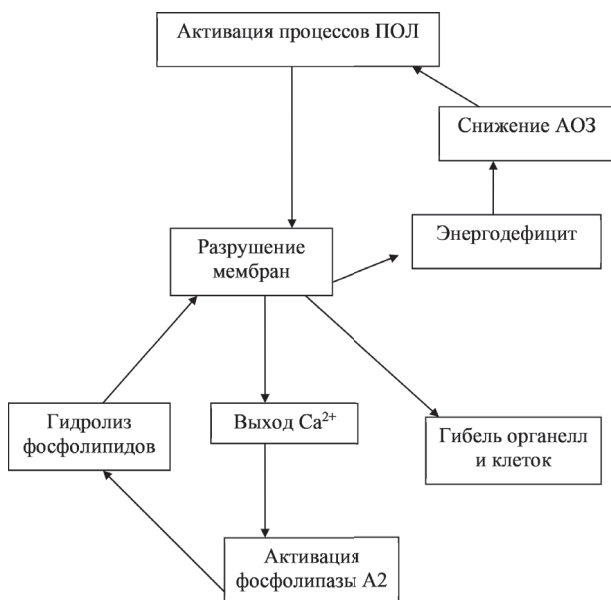


Рис. 36. Общая схема нарушения работы митохондрий под действием перекисного окисления липидов (ПОЛ), по данным Колосовой Н.Г. (2001) и Владимирова Ю.А. (2000) [33; 93; 32]; одновременное участие двух самоускоряющихся процессов

нерации на субклеточном уровне [183] и непосредственно влияет на скорость регенераторных процессов [381; 382].

Взаимосвязь между процессами ПОЛ и регенерации обсуждается в литературе, но остается не раскрытым ее непосредственный механизм [30; 54; 114; 183]. Имеются также примеры отрицательного влияния процессов ПОЛ на регенерацию на субклеточном уровне [251; 395].

Содержание малонового диальдегида (МДА) в субклеточных фракциях печени у зрелых крыс не обнаружило статистически достоверных изменений в условиях иммобилизационного стресс-воздействия (таблица 14). При стрессе содержание МДА в митохондриальной фракции печени старых животных достоверно увеличилось на 20% ($p < 0,05$) (таблица 14).

Не выявлено также достоверных различий в содержании гидроперекисей в субклеточных фракциях печени: у зрелых крыс коротко живущие нестойкие гидроперекиси не накапливались. В то же время у старых крыс в условиях иммобилизационного стресс-воздействия наблюдалось увеличение количества содержания гидроперекисей в постмитохондриальном супернатанте на 20% ($p < 0,05$) (таблица 15).

Изменения показателей ферментативной антиокислительной защиты в субклеточных фракциях печени подопытных крыс обеих возрастных групп в условиях иммобилизационного стресс-воздействия приведены в таблице 16 и 17.

Таблица 14

Содержание малонового диальдегида (МДА) в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в условиях иммобилизационного стресс-воздействия (мМоль/л)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	1,110±0,022	1,109±0,038	1,061±0,096	1,273±0,027*
Цитозоль	1,059±0,059	1,090±0,05	1,159±0,016	1,184±0,003*
Ядра	1,089±0,037	1,131±0,04	1,164±0,032	1,170±0,032

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

**Содержание гидроперекисей в субклеточных
фракциях печени зрелых и старых крыс в условиях
иммобилизационного стресс-воздействия (мМоль/л)**

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	1,011±0,132	0,981±0,113	1,204±0,094	1,110±0,1
Цитозоль	0,946±0,108	0,938±0,094	0,951±0,098	1,154 ±0,091*
Ядра	0,938±0,069	0,933±0,072	1,085±0,191	1,114±0,225

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

Как можно отметить (таблица 16), активность каталазы в различных субклеточных фракциях печени в условиях стресса ни у зрелых, ни у старых животных достоверных отличий от нормы не имела. Более того, средние показатели активности каталазы у зрелых животных почти не изменялись.

Можно отметить, что в условиях стресса у старых животных ни в одной из субклеточных фракций не произошло достоверного изменения активности антиокислительных ферментов (АОФ), а средние показатели активности пероксидазы заметно снижались, в то время как у зрелых животных при стрессе в митохондриальной фракции активность пероксидазы увеличивалась на 135% ($p < 0,05$) (таблица 17). Этим различием активности АОФ можно объяснить возрастное отличие в изменении содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в митохондриальной и постмитохондриальной фракциях печени старых и зрелых животных в условиях иммобилизационного стресс-воздействия (таблица 13). При стрессе вырабатывалось больше активных форм кислорода, но у зрелых крыс это событие компенсировалось резким повышением пероксидазной активности, а у старых крыс такой компенсации не происходило и, как результат, накапливались продукты ПОЛ. Таким образом, наши данные совпадают с имеющимся в литературе мне-

Таблица 16

Активность каталазы в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в условиях иммобилизационного стресс-воздействия (млКат/мг белка)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	0,142±0,038	0,142±0,034	0,143±0,035	0,171±0,047
Цитозоль	0,168±0,107	0,164±0,06	0,239±0,032	0,247±0,026
Ядра	0,041±0,016	0,044±0,02	0,099±0,043	0,137±0,054

Таблица 17

Активность пероксидазы в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в условиях иммобилизационного стресс-воздействия (млКат/мг белка)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	0,048±0,02	0,113±0,034*	0,090±0,059	0,082±0,071
Цитозоль	0,141±0,032	0,107±0,055	0,029±0,013	0,018±0,006
Ядра	0,334±0,094	0,277±0,052	0,236±0,067	0,109±0,086

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

нием о снижении с возрастом мощности антиоксидантной системы печени [17; 35; 55; 64].

В условиях стресса у старых крыс наблюдается повышение интенсивности процессов ПОЛ в митохондриальной фракции на фоне отсутствия достоверных изменений антиокислительной активности, в то время как у зрелых животных через 12 часов после стресса наблюдается повышение АОА в митохондриальной фракции на фоне неизменности уровня процессов ПОЛ. Таким образом, старые крысы более подвержены процессам ПОЛ при стрессе, что соответствует

литературным данным [5; 142]. Было установлено, что наиболее уязвимой для процессов ПОЛ в условиях старения оказывается митохондриальная фракция. Связь состояния системы ПОЛ/АОА и процессов старения в митохондриях на молекулярном уровне также уже отмечена в литературе [39; 278; 449].

Особенности фосфолипидного обмена в норме и при иммобилизационном стресс-воздействии показаны на примере содержания в субклеточных фракциях печени фосфолипидов и активности фосфолипазы A2 и приведены в таблицах 18 и 19.

Таблица 18

Активность фосфолипазы A2 в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в условиях иммобилизационного стресс-воздействия (млКат/мг белка)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	1,854±0,397	2,387±0,178	3,026±0,076	2,639±0,161 *
Цитозоль	2,519±0,277	2,398±0,13	2,894±0,124	3,179±0,124 *
Ядра	1,804±0,573	2,583±0,273	2,629±0,314	2,656±0,103

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

Таблица 19

Содержание фосфолипидов в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в условиях иммобилизационного стресс-воздействия (млМоль/л)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	0,197±0,043	0,304±0,068	0,080±0,009	0,133±0,033*
Цитозоль	0,249±0,053	0,392±0,058*	0,069±0,016	0,040±0,011*
Ядра	0,208±0,042	0,213±0,036	0,044±0,01	0,074±0,016*

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

В постмитохондриальном супернатанте при стрессе у старых животных наблюдалось увеличение активности фосфолипазы A2 на 10% ($p < 0,05$) (таблица 18), что может быть ответом на усиление процессов ПОЛ (таблица 14 и 15), и это согласуется с литературными данными о чувствительности фермента к продуктам перекисидации липидов [77; 205; 377; 399]. Это соответствует снижению на 42% ($p < 0,05$) (таблица 19) количества фосфолипидов в данной фракции у старых животных.

В то же время снижение активности фосфолипазы A2 на 11% ($p < 0,05$) (таблица 18) при стрессе в митохондриальной фракции печени старых животных сопровождалось увеличением содержания МДА в той же фракции на 20% ($p < 0,05$) (таблица 15) и достоверным увеличением содержания фосфолипидов в данной фракции на 66% ($p < 0,05$) (таблица 19). Таким образом, в данном случае прослеживается связь между активностью фосфолипазы A2, содержанием фосфолипидов и содержанием продуктов ПОЛ в субклеточных фракциях печени. В условиях иммобилизационного стресса активность фермента фосфолипазы A2 является одним из факторов регуляции ПОЛ, действие которого особенно заметно у старых животных.

Особенностью фосфолипидного обмена при стрессе у старых крыс можно назвать деструкцию фосфолипидсодержащих структур фракции цитозоля клетки при активном синтезе этих структур в митохондриальной и ядерной фракциях, в то время как у зрелых крыс наблюдается только активное накопление фосфолипидсодержащих структур в постмитохондриальном супернатанте. Фракция постмитохондриального супернатанта (ПМС) содержит большое количество липидов и является их внутриклеточным резервом, скорость восстановления которого с возрастом может меняться [5; 220; 377; 399]. Увеличение содержания фосфолипидов на 57% ($p < 0,05$) (таблица 19) во фракции ПМС зрелых крыс через 12 часов после иммобилизационного стресс-воздействия по сравнению с контролем объясняется восстановительными процессами. В аналогичных условиях у старых крыс происходит снижение на 42% ($p < 0,05$) (таблица 19) содержания фосфолипидов в постмитохондриальном супернатанте, что можно связать с замедлением восстановительных процессов при старении. Таким образом, у старых животных в ответ на стресс

более выражены структурные внутриклеточные изменения, связанные с метаболизмом фосфолипидов.

Заслуживает внимания особая роль фосфолипазы A2 цитозоля клетки у старых крыс. В условиях иммобилизационного стресс-воздействия на фоне активации процессов ПОЛ и отсутствия изменения АОА во фракции постмитохондриального супернатанта ПМС (цитозоль) увеличение активности фосфолипазы A2 на 10% видится нам существенной причиной невысокого содержания конечных продуктов ПОЛ.

В то же время снижение активности ФЛА2 на 11% в митохондриальной фракции печени у старых животных в условиях стресса приводит к 20% увеличению содержания продуктов ПОЛ (МДА) в указанной фракции. У старых животных в условиях стресса активность фосфолипазы A2 становится дополнительным (а может быть и основным) способом защиты от излишней активности процессов ПОЛ (рис. 37).

Однако роль фосфолипазы A2 не ограничивается в данном случае регуляцией перекисного окисления липидов. Скорее, активность ПОЛ влияет на активность фосфолипазы и может являться механизмом включения катаболизма липидов мембран фракции ПМС. Выстраивается логическая цепь: повышение содержания продуктов

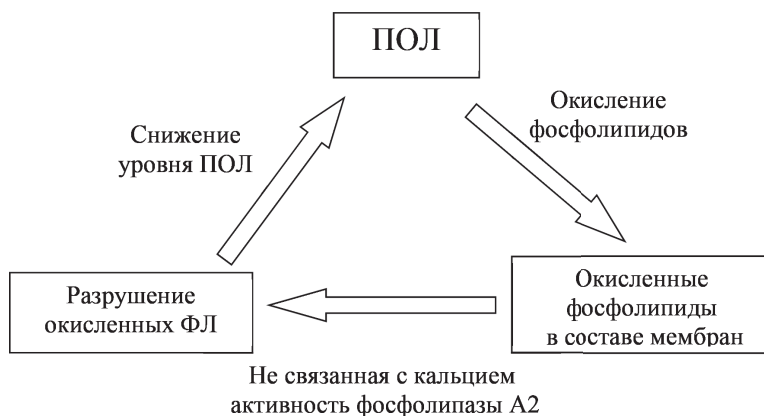


Рис. 37. Проявление стабилизирующего действия фосфолипазы A2 на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в митохондриальной субклеточной фракции клеток печени старых крыс

ПОЛ (гидроперекисей на 20%, $p < 0,05$, таблица 15) во фракции ПМС у старых крыс в условиях иммобилизационного стресс-воздействия приводило к повышению активности фосфолипазы A2 в той же фракции (на 10%, $p < 0,05$, таблица 18), что, в свою очередь, почти

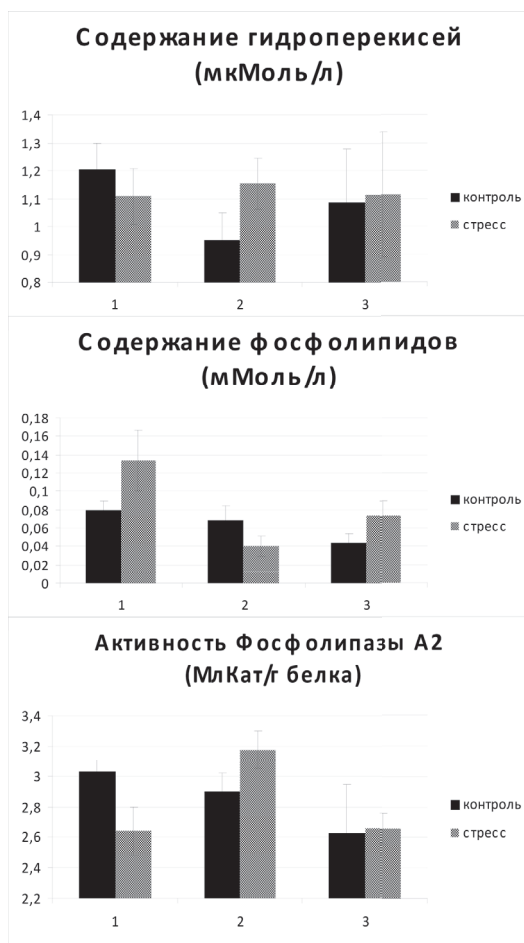


Рис. 38. Активность фосфолипазы A2, содержание гидроперекисей и фосфолипидов в митохондриях (1), цитозоле (2) и ядрах (3) у старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

вдвое сокращало содержание субстрата ПОЛ — фосфолипидов данной фракции (на 42%, $p < 0,05$, таблица 19, рис. 38). У зрелых крыс в условиях иммобилизационного стресс-воздействия подобной последовательности событий не наблюдалось. Данный пример может показывать взаимовлияние ПОЛ и метаболизма фосфолипидов, как и его возрастные особенности.

4.2. Изменения перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в субклеточных фракциях печени у зрелых и старых крыс в условиях вызванной регенерации при частичной гепатэктомии

Возрастные особенности изменений показателей ПОЛ в условиях вызванной регенерации при двутретьной гепатэктомии представлены в таблицах 20 и 21.

Увеличение концентрации малонового диальдегида (МДА) у зрелых крыс наблюдалось только в условиях регенерации печени в митохондриальной фракции на 7% ($p < 0,05$) (таблица 20). В то же время, у старых крыс процесс регенерации ни в одной из субклеточных фракций достоверных изменений концентрации МДА не вызвал. Наблюдалось лишь незначительное повышение средних показателей концентрации МДА во всех фракциях у старых крыс (таблица 20).

Как можно отметить (таблица 21), достоверных отличий ни у старых, ни у зрелых крыс содержания гидроперекисей во всех трех субклеточных фракциях печени в условиях регенерации не наблюдалось. Единственным возрастным отличием может являться то, что средние показатели содержания гидроперекисей у старых крыс колебались заметно больше, причем и в большую (во фракции цитозоля), и в меньшую сторону (фракции, содержащие митохондрии и ядра). Однако достоверно показатели перекисного окисления липидов в процессе регенерации повышались только у молодых животных в митохондриальной фракции (таблица 20).

Изменения показателей ферментативной антиокислительной защиты в субклеточных фракциях печени в условиях вызванной регенерации у подопытных крыс обеих возрастных групп приведены в таблице 22 и 23.

Таблица 20

Содержание малонового диальдегида (МДА) в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией (мкМоль/л)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	1,110±0,022	1,180±0,033*	1,061±0,096	1,086±0,088
Цитозоль	1,059±0,059	1,071±0,045	1,159±0,016	1,169±0,008
Ядра	1,089±0,037	1,116±0,041	1,164±0,032	1,176±0,025

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

Таблица 21

Содержание гидроперекисей в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией (мкМоль/л)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	1,011±0,132	0,971±0,086	1,204±0,094	1,062±0,106
Цитозоль	0,946±0,108	0,923±0,115	0,951±0,098	1,015±0,123
Ядра	0,938±0,069	0,946±0,105	1,085±0,191	0,925±0,161

Активность каталазы в митохондриальной фракции печени зрелых крыс на фоне регенерации, вызванной двутретьной гепатэктомией, была снижена в два раза по сравнению с показателями контрольной группы ($p < 0,05$) (таблица 22). Данное снижение показателей активности каталазы соответствовало повышению содержания МДА в митохондриальной фракции у зрелых крыс при двутретьной гепатэктомии на 7% ($p < 0,05$) (таблица 20). Активность

Таблица 22

**Активность каталазы в субклеточных фракциях печени
зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации,
вызванной частичной гепатэктомией (млКат/мг белка)**

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	0,142±0,038	0,069±0,03*	0,143±0,035	0,053±0,025*
Цитозоль	0,168±0,107	0,124±0,044	0,239±0,032	0,138±0,043*
Ядра	0,041±0,016	0,037±0,017	0,099±0,043	0,086±0,041

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

Таблица 23

**Активность пероксидазы в субклеточных фракциях печени
зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации,
вызванной частичной гепатэктомией (млКат/мг белка)**

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	0,048±0,02	0,085±0,011*	0,09±0,059	0,064±0,022
Цитозоль	0,141±0,032	0,096±0,005*	0,029±0,013	0,086±0,074
Ядра	0,334±0,094	0,117±0,043*	0,236±0,067	0,107±0,053*

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

каталазы в митохондриальной и постмитохондриальной фракциях печени старых животных при регенерации достоверно снижалась в митохондриальной фракции на 62% ($p < 0,05$) и в постмитохондриальном супернатанте — на 42% ($p < 0,05$) по сравнению с показателями контрольной группы животных соответствующей возрастной категории (таблица 22).

Активность пероксидазы у зрелых крыс при гепатэктомии в митохондриальной фракции регенерирующей печени повышалась на 77% ($p<0,05$) (таблица 23). Таким образом, можно сделать вывод о некоторой компенсации снижения активности каталазы (таблица 22) при гепатэктомии у животных зрелого возраста и восстановлении общей (суммарной) активности антиокислительных ферментов. В то же время, в митохондриальной фракции печени старых крыс при двутретьной гепатэктомии средние значения активности пероксидазы снизились на 28% по сравнению с контрольными животными той же возрастной группы (таблица 23).

В условиях гепатэктомии снижение антиокислительной активности наблюдалось у животных обеих возрастных групп. Однако у зрелых крыс есть и достоверное увеличение активности пероксидазы на 77% ($p<0,05$) в митохондриальной субклеточной фракции регенерирующей печени, а у старых крыс снижение активности антиокислительных ферментов наблюдалось во всех фракциях (таблица 23). Содержание МДА (рис. 39) достоверно повышалось на 7% ($p<0,05$) в митохондриальной фракции регенерирующей печени

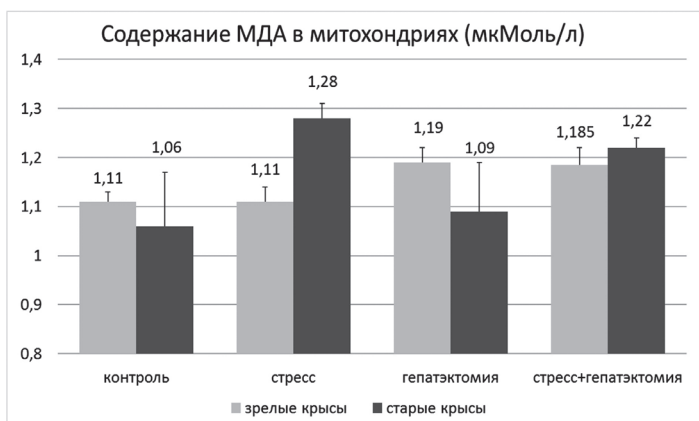


Рис. 39. Содержание малонового диальдегида (МДА) в митохондриальной фракции клеток печени крыс зрелого и старого возраста при иммобилизационном стресс-воздействии, частичной гепатэктомии и сочетании этих условий

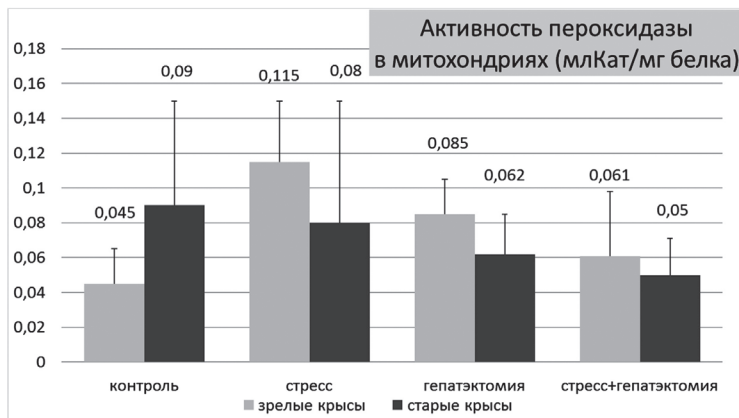


Рис. 40. Активность пероксидазы в митохондриальной фракции клеток печени крыс зрелого и старого возраста при иммобилизационном стресс-воздействии, частичной гепатэктомии и сочетании этих условий

у зрелых животных. То есть в той единственной фракции, где антиокислительная активность повысилась. Вероятно, повышение активности пероксидазы в митохондриальной фракции регенерирующей печени у зрелых крыс (рис. 40) не предупреждает активацию ПОЛ, а может рассматриваться как механизм адаптации к повышению ПОЛ. У старых крыс, несмотря на снижение антиокислительной активности во всех фракциях, повышения содержания продуктов ПОЛ в регенерирующей печени не обнаружилось.

Таким образом, в условиях регенерации у крыс зрелого возраста колебания показателей ПОЛ были выше, чем у крыс старого возраста. Можно предположить, что даже в условиях гепатэктомии для старого организма наиболее важным оказывается не регенераторный процесс, а сохранение гомеостаза, что соответствует литературным данным [5; 10; 97; 142].

В ядерной и цитозольной фракциях регенерирующей печени зрелых крыс снижалась активность пероксидазы, в ядерной — на 65% ($p < 0,05$), (таблица 23) и цитозольной — на 32% ($p < 0,05$), (таблица 23) что, однако, не ведет к усилению процессов ПОЛ в них (таблицы 20 и 21).

В ядерных фракциях, полученных из печени старых крыс, при активации регенераторных процессов показатели активности пероксидазы снижались в два раза ($p<0,05$) (таблица 23). У зрелых крыс при тех же условиях происходило аналогичное и даже большее снижение активности пероксидазы в ядерной фракции. Однако заметных изменений показателей ПОЛ в ядерной фракции у животных обеих возрастных групп это снижение антиокислительной активности не вызывало (таблицы 20 и 21).

Активность фосфолипазы A2 и содержание фосфолипидов в печени в норме и в условиях регенерации при двутретьней гепатэктомии у животных обеих возрастных групп представлены в таблице 24 и 25.

Достоверные отличия активности фосфолипазы A2 выявлены только в митохондриальной фракции регенерирующей печени животных обеих возрастных групп. Примечательно, что у зрелых крыс активность фосфолипазы A2 в условиях регенерации в данной фракции повышалась на 46% ($p<0,05$), а у старых крыс — снижалась на 6% ($p<0,05$) (таблица 24).

В условиях гепатэктомии активность фосфолипазы A2 в митохондриальной фракции клеток печени зрелых крыс повышалась на 46% ($p<0,05$), а в митохондриальной фракции клеток печени старых

Таблица 24

Активность фосфолипазы A2 в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией (млКат/мг белка)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	1,854±0,397	2,723±0,324*	3,026±0,076	2,849±0,089*
Цитозоль	2,519±0,277	2,3±0,529	2,894±0,124	3,015±0,104
Ядра	1,804±0,573	2,293±0,584	2,629±0,314	3,04±0,385

Примечание: * — $p<0,05$ при сравнении с контрольной группой.

Таблица 25

**Содержание фосфолипидов в субклеточных фракциях печени
зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации,
вызванной частичной гепатэктомией (мгМоль/л)**

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	0,197±0,043	0,238±0,063	0,08±0,009	0,074±0,019
Цитозоль	0,249±0,053	0,256±0,118	0,069±0,016	0,082±0,026
Ядра	0,208±0,042	0,228±0,058	0,044±0,01	0,13±0,036*

Примечание: * $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

крыс, наоборот, снижалась на 6% ($p < 0,05$) относительно контроля (таблица 25). Различные клеточные органеллы регенерируют с разной скоростью. Возможно, клетка может регулировать скорость биогенеза митохондрий активностью липаз. Здесь важную роль играют процессы ПОЛ, достоверно повышающиеся (таблица 20) и косвенно участвующие в регуляции активности фосфолипазы А2 [77; 205; 377; 399].

Можно предположить наличие тенденции к деструкции фосфолипидсодержащих структур в митохондриальной фракции клеток печени в условиях репаративной регенерации у зрелых крыс и тенденции к сохранению этих структур у старых крыс. Таким образом, еще раз подтверждается вывод о первоочередности поддержания гомеостаза у старых животных, возможно, даже в ущерб регенераторным процессам [5; 10; 97; 142].

У старых животных в условиях двутретьней гепатэктомии в ядерной фракции печени наблюдалось повышение содержания фосфолипидов на 195% ($p < 0,05$) (таблица 25). Такое повышение содержания фосфолипидов именно в ядерной фракции у старых животных может соответствовать повышенной многоядерности клеток регенерирующих тканей старых животных, описанной в литературе [22; 180; 195].

Также можно отметить повышение средних показателей содержания фосфолипидов во всех субклеточных фракциях регенериру-

ющей печени зрелых крыс. Образование новых мембран — важный компонент процесса регенерации [183], в тканях зрелых животных протекает активнее, чем в тканях старых.

4.3. Изменения перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в субклеточных фракциях печени у зрелых и старых крыс на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием

Возрастные особенности изменений показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ), содержания малонового диальдегида (МДА) и гидроперекисей в условиях вызванной регенерации на фоне иммобилизационного стресс-воздействия показаны в таблицах 26 и 27.

Увеличение показателя МДА у зрелых крыс наблюдается в митохондриальной фракции при стрессе на фоне регенерации на 6%, ($p<0,05$) (таблица 26) аналогично увеличению данного показателя на 7% ($p<0,05$) (таблица 20) в условиях только регенерации печени. В то же время, у старых крыс сам процесс регенерации ни в одной

Таблица 26

Содержание малонового диальдегида (МДА) в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием (мкМоль/л)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	1,11±0,022	1,178±0,041*	1,061±0,096	1,225±0,026*
Цитозоль	1,059±0,059	1,067±0,024	1,159±0,016	1,198±0,036
Ядра	1,089±0,037	1,148±0,022	1,164±0,032	1,232±0,021*

Примечание: * — $p<0,05$ при сравнении с контрольной группой.

Таблица 27

**Содержание гидроперекисей в субклеточных фракциях
печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации,
вызванной частичной гепатэктомией в сочетании
с иммобилизационным стресс-воздействием (мкМоль/л)**

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	1,011±0,132	1,066±0,109	1,204±0,094	0,999±0,112
Цитозоль	0,946±0,108	0,835±0,133	0,951±0,098	0,841±0,088
Ядра	0,938±0,069	0,939±0,073	1,085±0,191	0,908±0,08

из субклеточных фракций достоверных изменений содержания МДА не вызвал (таблица 20), но в условиях иммобилизационного стресса, как на фоне регенераторных процессов (таблица 26), так и без них (таблица 14) наблюдается достоверное повышение содержания МДА. Так, при стрессе на фоне гепатэктомии в митохондриальной фракции клеток печени старых крыс содержание МДА увеличилось на 16% ($p<0,05$) (таблица 26), в ядерной фракции — на 6% ($p<0,05$) (таблица 26). Можно говорить о повышенной чувствительности старого организма к стрессу и о более выраженном ответе ПОЛ на стресс-воздействие при старении, что соответствует литературным данным [5; 84; 85; 86; 142; 220; 221].

При регенерации в условиях иммобилизационного стресс-воздействия в постмитохондриальном супернатанте (ПМС) клеток печени зрелых крыс наблюдалось снижение на 12% средних показателей содержания гидроперекисей (таблица 27). Обнаруженное снижение содержания гидроперекисей, возможно, связано со снижением содержания во фракции ПМС субстрата ПОЛ — фосфолипидов мембраны (таблица 31). Это объяснимо, если предположить, что данная фракция служит своеобразным запасом строительного материала для мембран, восстанавливаемых органелл. В литературе отмечена способность фосфолипидов перераспределяться между субклеточными фракциями

под действием пролиферационных стимулов [251; 314; 381]. Таким образом, можно было бы говорить не о снижении содержания гидроперекисей, а об уменьшении размеров самой фракции, их содержащей.

Изменения активности антиокислительных ферментов в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс при регенерации

Таблица 28

Активность каталазы в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием (млКат/мг белка)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	0,142±0,038	0,048±0,031*	0,143±0,035	0,071±0,036*
Цитозоль	0,168±0,107	0,178±0,066	0,239±0,032	0,137±0,037*
Ядра	0,041±0,016	0,048±0,019	0,099±0,043	0,066±0,008

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

Таблица 29

Активность пероксидазы в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием (млКат/мг белка)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	0,048±0,02	0,062±0,034	0,09±0,059	0,052±0,022
цитозоль	0,141±0,032	0,226±0,108	0,029±0,013	0,08±0,051
ядра	0,334±0,094	0,172±0,051*	0,236±0,067	0,114±0,058*

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

в условиях иммобилизационного стресс-воздействия приведены в таблицах 28 и 29.

Можно отметить, что у старых животных при регенерации в условиях стресса не происходит увеличения активности АОФ (таблицы 28 и 29) по сравнению с активностью тех же ферментов при одной только регенерации (таблицы 22 и 23); тенденции к изменению активности каталазы и пероксидазы во всех субклеточных фракциях при обоих воздействиях схожи.

Активность каталазы в печени старых животных при регенерации в условиях иммобилизационного стресса снижена на 50% ($p<0,05$) в митохондриальной фракции и на 43% ($p<0,05$) — в постмитохондриальном супернатанте (таблица 28). Снижением активности каталазы можно объяснить увеличение концентрации МДА у старых крыс при регенерации в условиях иммобилизационного стресса на 6% ($p<0,05$) в ядерной и на 16% ($p<0,05$) — в митохондриальной фракции (таблица 26).

Можно отметить, что снижение активности каталазы у старых животных в митохондриальной и постмитохондриальной фракциях при регенерации (таблица 22) и при регенерации в условиях стресса (таблица 28) очень похоже. Активность каталазы в печени зрелых крыс при регенерации в условиях иммобилизационного стресса в митохондриальной фракции снижена на 66% ($p<0,05$) (таблица 28). Очевидно, регенераторные процессы вызывают снижение активности каталазы в обеих возрастных группах, однако последствия данной «экономии» для животных разного возраста различны. В то время как у животных зрелого возраста снижение активности антиокислительных ферментов при регенерации в условиях стресса приводит к накоплению продуктов ПОЛ только в митохондриальной фракции, то у старых животных МДА накапливалось и в ядерной фракции тоже, а в митохондриальной фракции содержание МДА повышалось на 16% ($p<0,05$) по сравнению с контрольными животными (таблица 26).

В ядерных фракциях, полученных из печени старых крыс, при регенерации в условиях стресса активность пероксидазы снижалась в два раза ($p<0,05$) по сравнению с тем же показателем контрольной группой животных соответствующей возрастной кате-

гории (таблица 29). Можно отметить подобное изменение показателей активности пероксидазы в ядерных фракциях гепатоцитов печени старых животных при регенераторных процессах без стресса (таблица 23). При регенерации в условиях стресса это, наравне с уже упомянутым снижением активности каталазы (таблица 28), приводило к повышению содержания продуктов ПОЛ в митохондриальной фракции на 16% ($p < 0,05$) (таблица 26). У зрелых крыс при тех же условиях происходило аналогичное снижение активности пероксидазы в ядерной фракции на 49% ($p < 0,05$) (таблица 29), но к достоверным изменениям показателей ПОЛ это не приводило (таблицы 26 и 27).

У старых крыс дополнительный стресс не приводил к сохранению активности активных форм кислорода при регенерации, и это подтверждает уже имеющееся в литературе мнение [17; 124; 371] о состоянии «напряжения» при старении в механизмах адаптации печени при стрессе в условиях дополнительного воздействия.

В постмитохондриальном супернатанте печени старых крыс при гепатэктомии в сочетании с иммобилизационным стрессом активность пероксидазы (таблица 29) возрастает в два с половиной раза по сравнению с тем же показателем у контрольных животных. Возможно, сказывается общее усиление синтеза белка в клетках в процессе физиологической регенерации. Во фракции цитозоля это приводило к снижению на 11% содержания гидроперекисей у старых животных.

В митохондриальной фракции печени старых крыс активность пероксидазы снижалась на 9% при стрессе (таблица 17) и уменьшалась на 29% при двутретьней гепатэктомии (таблица 23). При иммобилизационном стресс-воздействии в сочетании с двутретьней гепатэктомией активность пероксидазы снижалась относительно показателей у животных, подвергнутых только стрессу на 42% (таблицы 17 и 29). Резкое уменьшение активности пероксидазы может быть связано с уменьшением ее синтеза в митохондриях, что, возможно, свидетельствует об ограничении синтеза белков, не выполняющих структурную функцию, в условиях вызванной регенерации. Снижение способности к синтезу белка в старом организме отмечено многими авторами [5; 49; 97; 188].

Таким образом, при регенерации в условиях стресса снижение антиокислительной активности наблюдалось во всех субклеточных фракциях клеток печени у старых крыс (как и при регенерации без стресса), а у зрелых крыс — только в митохондриальной и ядерной субклеточных фракциях. Можно предположить, что в процессе регенерации белки, не участвующие в образовании структур, синтезируются менее активно, уступая место белкам цитоскелета и прочим, необходимым для поддержания целостности клеточных органелл. Этим можно объяснить низкую активность антиокислительных ферментов у старых крыс во всех субклеточных фракциях при регенерации и при регенерации в условиях стресса. Очевидно, для зрелых крыс эта тенденция к снижению синтеза антиокислительных ферментов проявлялась не так выражено. И, как результат, процессы ПОЛ у старых крыс были более активны и проявлялись в митохондриальной и ядерной субклеточных фракциях клеток печени, а у крыс зрелого возраста — только в митохондриальной.

Необходимо также отметить возрастные особенности влияния различных воздействий на состояние системы ПОЛ/АОА в субклеточных фракциях клеток печени крыс зрелого и старого возраста. У зрелых крыс при активации процессов регенерации печени наблюдалось увеличение показателя МДА в митохондриальной субклеточной фракции на 7%, ($p < 0,05$), при иммобилизационном стресс-воздействии на фоне активации регенерации количество МДА увеличилось на 6% при $p < 0,05$ (таблица 20 и 26). В то же время, у старых крыс сам процесс регенерации ни в одной из субклеточных фракций достоверных изменений содержания МДА не вызвал (таблица 20), но в условиях иммобилизационного стресс-воздействия, как на фоне регенераторных процессов (таблица 26), так и без них (таблица 14) наблюдалось достоверное повышение содержания МДА. Так, при иммобилизационном стресс-воздействии на фоне гепатэктомии в митохондриальной фракции клеток печени старых крыс содержание МДА увеличилось на 16% ($p < 0,05$), в ядерной фракции — на 6% ($p < 0,05$), (таблица 26). Можно говорить о повышенной чувствительности старого организма к стрессу и о более выраженном ответе процессов ПОЛ на стресс при старении, что соответствует литературным данным [142; 219; 220; 221].

В условиях стресса регенерирующая печень более уязвима для процессов ПОЛ у старых животных, чем у зрелых, и прежде всего в митохондриальной и ядерной субклеточных фракциях клеток печени. Тот факт, что у старых животных в субклеточных фракциях печени при регенерации в условиях стресса повышается содержание продуктов ПОЛ, имеет особое значение ввиду имеющихся литературных данных о стимулирующем влиянии продуктов ПОЛ на полиплоидизацию регенерирующих клеток печени [332]. В свою очередь, полиплоидизация клеток снижает пролиферативный потенциал регенерирующей ткани. У старых животных регенерация сопутствует образованию ядер более высокой ploидности [22; 195]. В свете вышеизложенного мы можем предложить объяснять высокую степень полиплоидизации и многоядерности клеток регенерирующей печени у старых животных, отмеченную в литературе, именно повышением содержания продуктов ПОЛ в ядерной фракции, обнаруженном в нашей работе.

Изменения показателей фосфолипидного обмена в субклеточных фракциях печени подопытных животных обеих возрастных групп при регенерации в условиях стресса приведены в таблицах 30 и 31.

Таблица 30

Активность фосфолипазы A2 в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием (млКат/мг белка)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	1,854±0,397	1,724±0,476	3,026±0,076	2,973±0,167
Цитозоль	2,519±0,277	1,508±0,422*	2,894±0,124	2,863±0,208
Ядра	1,804±0,573	2,123±0,568	2,629±0,314	2,959±0,158

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

Таблица 31

**Содержание фосфолипидов в субклеточных фракциях печени
зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации,
вызванной частичной гепатэктомией в сочетании
с иммобилизационным стресс-воздействием (млМоль/л)**

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	0,197±0,043	0,169±0,029*	0,08±0,009	0,053±0,016*
Цитозоль	0,249±0,053	0,217±0,062	0,069±0,016	0,053±0,016
Ядра	0,208±0,042	0,354±0,059*	0,044±0,01	0,078±0,013*

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

Снижение активности фосфолипазы A2 в постмитохондриальном супернатанте у зрелых животных при стрессе на фоне регенерации на 40% ($p < 0,05$) имеет значение в регуляции процессов регенерации (таблица 30). Клетка регулирует скорость синтеза мембранных структур активностью липаз, и в этом процессе принимает участие ПОЛ.

Снижение содержания фосфолипидов в митохондриальной фракции при регенерации в условиях стресса у зрелых крыс на 14% ($p < 0,05$) (таблица 31) сопровождалось усилением процессов ПОЛ (таблица 14). Аналогичная ситуация в митохондриальной фракции при регенерации в условиях стресса наблюдалась и у старых животных. Причем содержание фосфолипидов по сравнению с контролем в данной фракции у старых животных снижалось на 33% ($p < 0,05$), что превышало снижение содержания фосфолипидов у молодых животных более чем вдвое (таблица 31). В обоих случаях это сопровождалось достоверным повышением содержания МДА — на 6% у зрелых и на 16% у старых крыс (таблица 26).

Если митохондрии являются мишенями разрушительного действия ПОЛ [32; 33], то снижение содержания фосфолипидов в мито-

хондриальной фракции может свидетельствовать о гибели и разрушении самих митохондрий. В таком случае у старых животных при регенерации в условиях стресса митохондрии разрушаются активнее.

Кроме того, при всех произведенных воздействиях (при стрессе, при гепатэктомии или при стрессе на фоне регенераторных процессов) содержание фосфолипидов в ядерной фракции печени старых животных достоверно повышалось (таблицы 19, 25, 31). У зрелых крыс подобное наблюдалось только при совместном воздействии гепатэктомии и стресса. Повышение содержания фосфолипидов в ядерной фракции может являться результатом репаративной регенерации, сопровождающейся и (или) приводящей к полиплоидии и многоядерности, которые по литературным данным характерны для тканей старого организма [17; 22].

Возрастной особенностью фосфолипидного обмена при регенерации в условиях стресса можно назвать вдвое большую деструкцию фосфолипидсодержащих структур митохондриальной фракции у крыс старого возраста. Можно сказать, что деструктивные последствия стресса при регенерации в митохондриальной субклеточной фракции для старых крыс больше, чем для зрелых. Выявленное снижение содержания фосфолипидов в митохондриальной субклеточной фракции печени старых крыс соответствует повышению содержания продуктов ПОЛ в данной фракции. При повышении содержания МДА у зрелых крыс в митохондриальной субклеточной фракции регенерирующей печени в условиях стресса на 6% содержание фосфолипидов в той же фракции снижалось на 14%, а повышение содержания МДА у старых крыс в митохондриальной субклеточной фракции регенерирующей печени в условиях стресса на 16% сопровождалось снижением содержания фосфолипидов в той же фракции на 33% (рис. 41). Таким образом, взаимосвязь фосфолипидного обмена и процессов ПОЛ в митохондриальной субклеточной фракции регенерирующей печени в условиях стресса можно наблюдать у обеих возрастных категорий крыс, но у старых она более выражена.

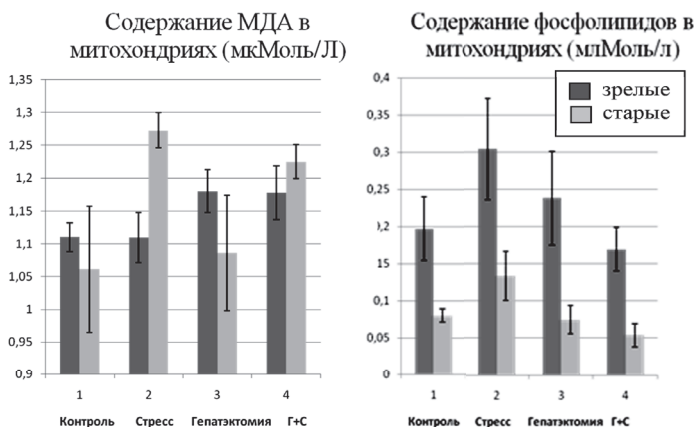


Рис. 41. Содержание малонового диальдегида (МДА) и фосфолипидов в митохондриальной фракции клеток печени крыс зрелого и старого возраста при иммобилизационном стресс-воздействии, частичной гепатэктомии и сочетании этих условий (Г+С=гепатэктомия и стресс воздействие)

4.4. Коррекция адреналином изменений перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в субклеточных фракциях печени у зрелых и старых крыс на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием

Возрастные особенности изменений показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности в условиях вызванной регенерации на фоне иммобилизационного стресс-воздействия при предварительных воздействиях адреналином показаны в таблицах 32 и 33.

Для сравнения в качестве контроля приведены коэффициенты для крыс, подвергнутых частичной гепатэктомии в условиях иммобилизационного стресс-воздействия без предварительного воздействия нейромедиаторами.

Таблица 32

Влияние адреналина на изменение величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	106,4±2,7	108,6±1,8	105,6±1,0	95,4±3,3*
Цитозоль	101,8±4,4	105,2±3,8	100,9±1,2	97,3±8,2
Ядра	95,0±4,0	105,2±1,4*	103,1±2,2	98,4±3,2

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с группами контрольных животных соответствующего возраста, подвергнутых частичной гепатэктомии в условиях стресса без предварительного воздействия нейромедиатора.

Таблица 33

Влияние адреналина на изменение величины коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	104,1±6,0	103,3±0,3	98,0±0,5	100,2±0,1*
Цитозоль	104,0±2,3	96,7±2,7*	100,4±1,4	103,7±1,2
Ядра	103,05±5,0	110,8±1,2*	104,7±1,1	110,2±2,0*

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с группами контрольных животных соответствующего возраста, подвергнутых частичной гепатэктомии в условиях стресса без предварительного воздействия нейромедиатора.

Воздействия адреналином выявили возрастные различия в показателях коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) субклеточных фракций регенерирующей печени старых и зрелых крыс в условиях стресса (таблица 32). У зрелых крыс серия инъекций адреналина вызывала повышение на 11% ($p < 0,05$) в ядерной фракции клеток печени (таблица 32). У старых крыс при воздействии адреналином изменений показателей КПОЛ в ядерной фракции клеток печени зарегистрировано не было, а в митохондриальной фракции наблюдалось снижение показателя КПОЛ на 10% ($p < 0,01$) (таблица 32).

Увеличение величины коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в ядерной фракции животных обеих возрастных групп, подвергнутых гепатэктомии, иммобилизационному стрессу и воздействию периодическими подкожными инъекциями адреналином, логично объяснить реакцией адаптации (таблица 33). Периодическое действие адреналина увеличивало величину ПОЛ, на что организм реагировал увеличением активности ферментов антиоксидантов. Так, у зрелых крыс за 11% ($p < 0,05$) повышением показателя КПОЛ в ядерной фракции следовало «догоняющее» 7% ($p < 0,05$) (таблицы 32 и 33) повышение показателя КАОА. У старых крыс меньшее повышение среднего показателя КАОА в ядерной фракции (5% против 7% у молодых) подтверждает их меньшую способность к синтезу ферментов.

С другой стороны, у старых крыс, в отличие от зрелых, в ядерной фракции при предварительном воздействии адреналином не отмечалось достоверного увеличения КПОЛ, а средние показатели были снижены по сравнению с контролем. Возможно, в регуляции процессов ПОЛ задействованы другие механизмы, помимо функционирования антиокислительных ферментов. К подобной точке зрения приводит и тот факт, что при 10-процентном ($p < 0,01$) снижении показателя КПОЛ в митохондриальной фракции у старых животных при предварительном воздействии адреналином не было соответствующего повышения показателя КАОЗ в той же фракции (таблица 32).

При активации регенерации в условиях стресс-воздействия и введении адреналина у старых крыс наблюдалось снижение содержания продуктов ПОЛ в митохондриальной субклеточной фракции клеток печени (рисунок 42). Это снижение на 10% ($p < 0,05$) КПОЛ

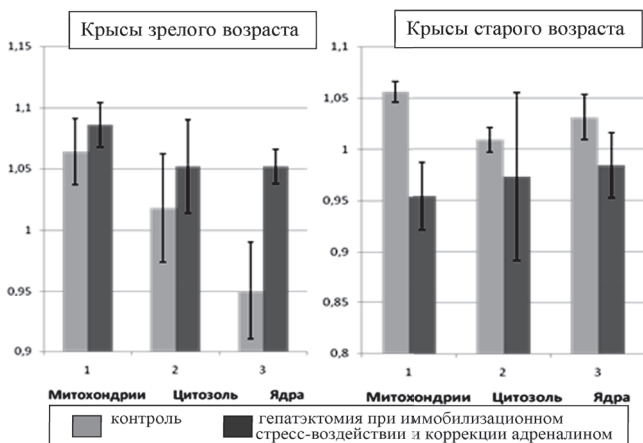


Рис. 42. Коэффициент перекисного окисления липидов в субклеточных фракциях клеток печени крыс зрелого и старого возраста при частичной гепатэктомии в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием и коррекцией адреналином

в митохондриальной субклеточной фракции у старых крыс при воздействии адреналином, вероятно, связано с увеличением на 175% ($p < 0,01$) активности фосфолипазы A2 (таблицы 32, 34).

Изменения метаболизма фосфолипидов, их содержания и активности фосфолипазы A2 в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс представлены в таблицах 34 и 35.

Воздействие адреналином вызывало изменения активности фосфолипазы A2 в регенерирующей печени в условиях стресса у животных обеих возрастных групп. Однако у старых крыс изменения активности фосфолипазы A2, как и изменения содержания фосфолипидов в субклеточных фракциях, были более выражены, чем у зрелых крыс. Так, у зрелых крыс наблюдалось повышение на 156% ($p < 0,05$) активности фосфолипазы A2 только в митохондриальной фракции, в то время как у старых крыс активность фосфолипазы A2 повышалась на 175% ($p < 0,01$) в митохондриальной фракции, на 125% ($p < 0,001$) — в ядерной фракции и на 70% ($p < 0,05$) — в постмитохондриальном супернатанте (таблица 34).

Таблица 34

Влияние адреналина на изменение активности фосфолипазы A2 в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием (млКат/мг белка)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	0,574±0,256	1,474±0,288 *	0,542±0,175	1,493±0,135*
Цитозоль	1,435±0,193	1,485±0,182	0,82±0,082	1,4±0,236*
Ядра	1,02±0,095	1,227±0,338	0,82±0,082	1,847±0,055*

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с группами контрольных животных соответствующего возраста, подвергнутых частичной гепатэктомии в условиях стресса без предварительного воздействия нейромедиатора.

Таблица 35

Влияние адреналина на изменение содержания фосфолипидов в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием (мМоль/л)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	0,134±0,015	0,154±0,017	0,146±0,015	0,171±0,007*
Цитозоль	0,217±0,018	0,273±0,019*	0,301±0,011	0,383±0,026*
Ядра	0,248±0,017	0,107±0,008*	0,127±0,019	0,21±0,019*

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с группами контрольных животных соответствующего возраста, подвергнутых частичной гепатэктомии в условиях стресса без предварительного воздействия нейромедиатора.

В условиях воздействия адреналином по-разному изменялось содержание фосфолипидов в субклеточных фракциях регенерирующей печени в условиях стресса у старых и зрелых крыс. У зрелых крыс при воздействии адреналином содержание фосфолипидов повышалось на 26% ($p<0,05$) в цитозольной фракции клеток печени и снижалось на 57% ($p<0,05$) в ядерной фракции (таблица 35). У старых крыс в условиях воздействия адреналином во всех субклеточных фракциях содержание фосфолипидов повышалось: в митохондриальной фракции — на 17% ($p<0,05$), в ядерной — на 65% ($p<0,05$) и во фракции цитозоля клеток печени — на 27% ($p<0,05$) (таблица 35).

Увеличение содержания фосфолипидов в ядерной фракции регенерирующей печени у старых животных может отражать активацию процессов мембраногенеза [183] в данной фракции. Поскольку ядерная фракция содержит в основном ядра, можно предположить положительное влияние предварительного воздействия адреналина на процессы регенерации у старых животных. В то же время снижение содержания фосфолипидов в ядерной фракции регенерирующей печени в условиях стресса у зрелых животных после предварительного воздействия адреналином может свидетельствовать о снижении пролиферативных процессов.

Увеличение активности фосфолипазы A2 отражается на метаболизме фосфолипидов как основного субстрата ПОЛ. Так, понижение на 10% ($p<0,05$) КПОЛ в митохондриальной фракции у старых животных при предварительном воздействии адреналином по сравнению с контрольной группой животных, вероятно, связано с увеличением на 175% ($p<0,01$) активности фосфолипазы A2 (таблицы 32 и 34). Фосфолипаза A2, активируясь в условиях ПОЛ, удаляет из мембраны окисленные жирные кислоты, тем самым приостанавливая процессы ПОЛ [77; 205]. Таким образом, у старых животных в митохондриальной фракции регенерирующей печени в условиях стресса при предварительном воздействии адреналином фосфолипаза A2 непосредственно снижает активность процессов ПОЛ.

У зрелых крыс мы наблюдали другую картину. Снижение содержания фосфолипидов в ядерной фракции гепатоцитов регенерирующей печени в условиях стресса при воздействии адреналином

на 57% ($p<0,05$) у зрелых крыс соответствовало повышению на 11% ($p<0,05$) содержания продуктов ПОЛ в той же фракции (таблицы 32 и 34). Можно было бы ожидать повышения активности фосфолипазы в данной фракции аналогично старым крысам, однако этого не наблюдалось. Остается только предположить, что за 12 часов от момента окончания стресс-воздействия на животных и до их забоя активность фермента фосфолипазы A2 успела понизиться либо эти события совершенно не связаны друг с другом.

Фосфолипаза A2, активируясь в условиях ПОЛ, удаляла из числа субстратов окисленные жирные кислоты — возможные активаторы цепной реакции, тем самым приостанавливая процессы ПОЛ [77; 205; 377; 399]. Таким образом, у старых крыс в митохондриальной фракции регенерирующей печени в условиях стресса при воздействии адреналином фосфолипаза A2 непосредственно снижала активность процессов ПОЛ, еще раз подтверждая значение активности некоторых ключевых ферментов в регуляции процессов ПОЛ у животных старого возраста.



Рис. 43. Активность фосфолипазы A2 (млКАТ/г белка) в субклеточных фракциях клеток печени крыс зрелого и старого возраста при частичной гепатэктомии в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием и коррекцией адреналином

Особенно нужно отметить, что значительное повышение активности фосфолипазы A2 во всех субклеточных фракциях регенерирующей печени старых животных в условиях стресса при коррекции адреналином соответствует не понижению показателей содержания фосфолипидов в этих фракциях, чего можно было бы ожидать, а, напротив, повышению (рисунок 43).

Так, в регенерирующей печени у старых крыс в условиях иммобилизационного стресс-воздействия и коррекцией адреналином активность фосфолипазы A2 повышалась во всех изучаемых субклеточных фракциях гепатоцитов (таблица 34), что соответствовало аналогичному повышению количества фосфолипидов в тех же субклеточных фракциях (таблица 35).

Особенности предварительного воздействия адреналина у старых животных в субклеточных фракциях регенерирующей печени в условиях стресса схематично показаны на рисунке 44.

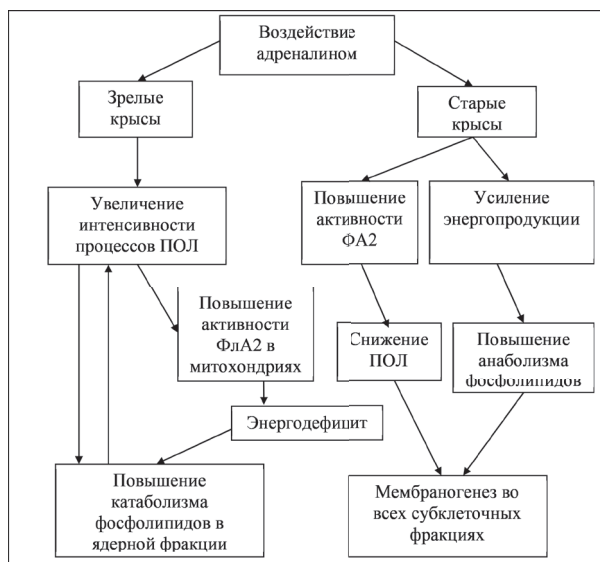


Рис. 44. Особенности действия адреналина в субклеточных фракциях печени крыс зрелого и старого возраста при иммобилизационном стресс-воздействии в комбинации с частичной гепатэктомией

Таким образом, воздействие адреналином по-разному влияет на фосфолипидный обмен в субклеточных фракциях регенерирующей печени в условиях стресса у животных разного возраста. У старых крыс происходило усиление активности фосфолипазы А2 и снижение уровня ПОЛ, а у зрелых крыс — повышение уровня ПОЛ при меньшем усилении активности фосфолипазы А2. Повышение содержания фосфолипидов во всех субклеточных фракциях у старых крыс при воздействии адреналином может свидетельствовать об активном образовании фосфолипидсодержащих структур и успешных регенераторных процессах. Наряду с вышесказанным, можно считать этот факт достойным дальнейшего изучения.

4.5. Коррекция ацетилхолином изменений перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в субклеточных фракциях печени у зрелых и старых крыс на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием

Возрастные особенности изменений показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности в условиях вызванной регенерации на фоне иммобилизационного стресс-воздействия при воздействии ацетилхолином показаны в таблицах 36 и 37.

При активации регенерации двутретьной гепатэктомией в условиях иммобилизационного стресс-воздействия и при введении ацетилхолина можно отметить достоверное снижение КПОЛ в митохондриальной и цитозольной субклеточных фракциях у животных обеих возрастных групп. Наблюдалось снижение величины КПОЛ у зрелых крыс на 18% ($p<0,01$) в митохондриальной фракции и на 11% ($p<0,05$) — в цитозольной фракции, а у старых крыс произошло достоверное снижение показателей КПОЛ на 12% ($p<0,001$) только в митохондриальной фракции и лишь небольшое снижение средних показателей в постмитохондриальном супернатанте (таблица 36, рис. 45). Таким образом, у зрелых крыс снижение КПОЛ в субклеточных фракциях регенерирующей печени в условиях иммобилизационного стресс-воздействия при воздействии ацетилхолином было

Таблица 36

Влияние ацетилхолина на изменение величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	106,4±2,7	87,7±3,0*	105,6±1,0	92,9±0,7*
Цитозоль	101,8±4,4	90,3±2,0*	100,9±1,2	95,8±2,2*
Ядра	95,0±4,0	93,2±1,8	103,1±2,2	102,2±4,5

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с группами контрольных животных соответствующего возраста, подвергнутых частичной гепатэктомии в условиях стресса без предварительного воздействия нейромедиатора.

Таблица 37

Влияние ацетилхолина на изменение величины коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	104,1±0,6	102,1±0,7 *	98,0±0,5	99,5±0,5
Цитозоль	104,0±2,3	104,7±1,3	100,4±1,4	104,2±2,6
Ядра	103,5±5,0	107,5±1,3	104,7±1,1	112,4±0,7 *

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с группами контрольных животных соответствующего возраста, подвергнутых частичной гепатэктомии в условиях стресса без предварительного воздействия нейромедиатора.

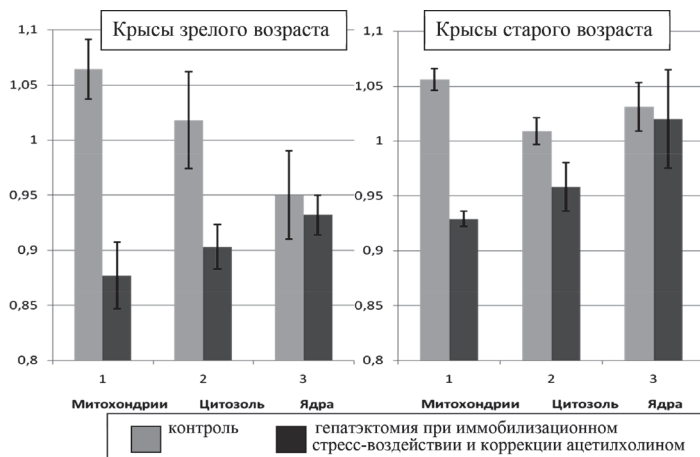


Рис. 45. Коэффициент перекисного окисления липидов в субклеточных фракциях клеток печени крыс зрелого и старого возраста при частичной гепатэктомии в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием и коррекцией ацетилхолином

более выражено, а в митохондриальной субклеточной фракции — почти вдвое больше, чем у старых крыс.

При воздействии ацетилхолином у старых крыс наблюдалось повышение на 7% ($p < 0,001$) величины коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в ядерной фракции гепатоцитов (таблица 37). При этом повышение КАОА не сопровождалось снижением КПОЛ в ядерной фракции гепатоцитов старых крыс, как и снижение КАОА в митохондриальной фракции не сопровождалось повышением КПОЛ в гепатоцитах у молодых крыс (таблицы 36 и 37). Это позволяет сделать вывод, что снижение показателей КПОЛ в митохондриальной фракции и постмитохондриальном супернатанте клеток регенерирующей печени у старых и зрелых крыс в условиях иммобилизационного стресс-воздействия при воздействии ацетилхолином не связано с показателями КАОА.

Изменения метаболизма фосфолипидов на примере их содержания и активности фосфолипазы A2 в субклеточных фракциях регенерирующей печени животных в условиях иммобилизацион-

ного стресс-воздействия при воздействии ацетилхолином представлены в таблицах 38 и 39.

У зрелых крыс в регенерирующей печени в условиях иммобилизационного стресс-воздействия при воздействии ацетилхолином активность фосфолипазы А2 в цитозоле гепатоцитов снижалась на 85% ($p<0,01$), в ядерной фракции снижалась на 49% ($p<0,01$) (таблица 38). При этом содержание фосфолипидов у зрелых крыс увеличивалось только в постмитохондриальном супернатанте (цитозоль) гепатоцитов на 64% ($p<0,001$) (таблица. 39). Таким образом, у зрелых крыс воздействие ацетилхолином приводило к накоплению фосфолипидсодержащих структур и снижению катаболизма фосфолипидов в цитозольной фракции гепатоцитов.

У старых крыс в тех же условиях происходило снижение активности фосфолипазы А2 в постмитохондриальном супернатанте (цитозоль) на 63% ($p<0,05$), что на фоне снижения на 36% ($p<0,001$) содержания фосфолипидов в цитозольной фракции гепатоцитов может свидетельствовать о произошедшем разрушении (уменьшении) мембранных структур самой фракции (таблицы 38 и 39). В ядерной фракции у старых крыс в условиях воздействия ацетилхолином

Таблица 38

Влияние ацетилхолина на изменение активности фосфолипазы А2 в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием (млКат/мг белка)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	0,574±0,256	0,425±0,12	0,542±0,175	0,053±0,075
Цитозоль	1,435±0,193	0,208±0,131*	0,82±0,082	0,307±0,237*
Ядра	1,02±0,095	0,524±0,036*	0,82±0,082	0,555±0,181

Примечание: * — $p<0,05$ при сравнении с группами контрольных животных соответствующего возраста, подвергнутых частичной гепатэктомии в условиях стресса без предварительного воздействия нейромедиатора.

Таблица 39

Влияние ацетилхолина на изменение содержания фосфолипидов в субклеточных фракциях печени зрелых и старых крыс в норме и на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием (мМоль/л)

Субклеточные фракции	Группы крыс			
	Зрелые крысы		Старые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Митохондрии	0,134±0,015	0,149±0,007	0,146±0,015	0,09±0,002
Цитозоль	0,217±0,018	0,356±0,017*	0,301±0,011	0,193±0,011*
Ядра	0,248±0,017	0,281±0,015	0,127±0,019	0,218±0,019 *

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с группами контрольных животных соответствующего возраста, подвергнутых частичной гепатэктомии в условиях стресса без предварительного воздействия нейромедиатора.

наблюдалось снижение средних показателей активности фосфолипазы А2 на 32% на фоне повышения содержания фосфолипидов на 72% ($p < 0,05$) (таблицы 38 и 39).

В отсутствии заметных увеличений КАОА в обеих фракциях и при наличии снижения активности фосфолипазы А2 у животных обеих возрастных групп можно предположить тормозящее действие ацетилхолина на окислительные процессы в митохондриях, уже отмеченное в литературе [47; 187; 431]. Тот факт, что на зрелых крыс действие ацетилхолина оказалось большим, можно связать со снижением чувствительности клетки к регуляторным сигналам с возрастом [46; 121; 229].

При воздействии ацетилхолином были также заметны возрастные различия в метаболизме фосфолипидсодержащих структур субклеточных фракций регенерирующей печени крыс в условиях иммобилизационного стресс-воздействия (рис. 46). У зрелых крыс наблюдалось повышение содержания фосфолипидов во фракции постмитохондриального супернатанта (цитозоль) на 64% ($p < 0,001$), а у старых — снижение содержания фосфолипидов в той же фракции на 45% ($p < 0,001$) (таблица 39). Кроме того, в ядерной фракции регенерирующей печени у старых крыс в условиях иммобилизацион-

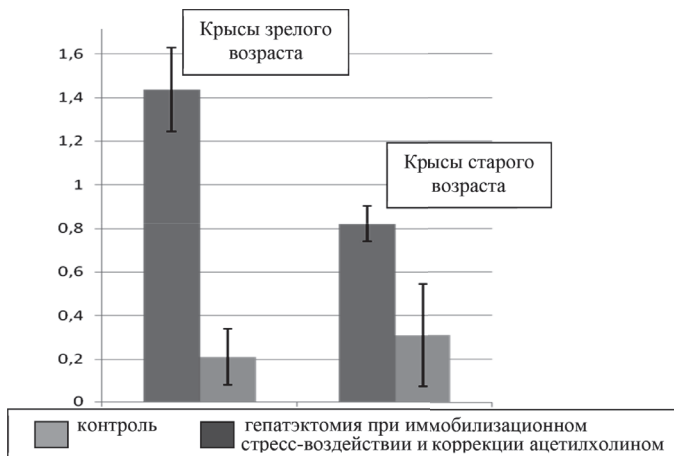


Рис. 46. Активность фосфолипазы А2 (млКАТ/г белка) в цитозоле клеток печени крыс зрелого и старого возраста при частичной гепатэктомии в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием и коррекцией ацетилхолином

ного стресс-воздействия при коррекции ацетилхолином наблюдалось повышение содержания фосфолипидов на 72% ($p < 0,05$) (таблица 39). Обобщая, можно отметить, что у зрелых животных наблюдается накопление резервов цитозольной субклеточной фракции, а у старых — деструкция цитозольной фракции на фоне резкого повышения содержания фосфолипидов в ядерной фракции клеток печени.

Перераспределение фосфолипидов в клетках печени [251; 314; 381] свидетельствует об активном мембраногенезе [183] в указанных субклеточных фракциях (рисунок 47). Постмитохондриальный супернатант представлен содержимым цитоплазмы клетки и, в том числе, резервными формами липидов. Мембраногенез фракции постмитохондриального супернатанта может являться способом накопления клеткой резервов, что будет полезно при стрессе. Ядерная фракция содержит ядра, и мембраногенез в ней может свидетельствовать об активных регенераторных процессах.

Исходя из полученных данных, можно предположить, что у зрелых крыс при регенерации в условиях иммобилизационного

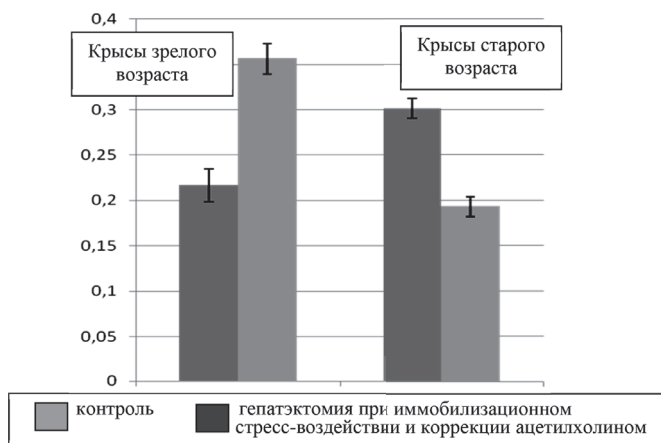


Рис. 47. Содержание фосфолипидов (млМоль/л) в цитозоле клеток печени крыс зрелого и старого возраста при частичной гепатэктомии в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием и коррекцией ацетилхолином

стресс-воздействия при воздействии ацетилхолином происходило усиление процессов накопления резерва фосфолипидов, используемого клетками печени при стрессе, а у старых крыс в тех же условиях происходила активация регенераторных процессов. В данном случае наблюдались возрастные различия в действии ацетилхолина, связанные с перераспределением фосфолипидов между субклеточными фракциями [251; 314; 381]. У зрелых животных предварительное воздействие ацетилхолином приводило к увеличению содержания фосфолипидов в цитозольной фракции гепатоцитов, что может свидетельствовать о процессах синтеза мембран, активации процессов мембраногенеза [183], образовании новых структур, активации накопительной функции фракции постмитохондриального супернатанта, все это может быть полезно в условиях стресса. У старых животных наблюдается редукция цитозольной фракции гепатоцитов и резкое повышение количества фосфолипидсодержащих структур в ядерной фракции, что может свидетельствовать об усиленном синтезе ядерных мембран и, возможно, ускорении пролиферативных процессов.

Очевидно, что к воздействию ацетилхолином печень зрелых крыс, регенерирующая в условиях иммобилизационного стресс-воздействия, более чувствительна, чем печень старых крыс.

Воздействие ацетилхолина по-разному влияет на ПОЛ и метаболизм фосфолипидов в субклеточных фракциях регенерирующей печени в условиях стресса у животных разного возраста. Возрастные отличия в изменениях показателей ПОЛ, вызванные воздействием ацетилхолина и его действием на окислительные процессы в митохондриях, в большей степени проявляются у зрелых животных. Изменения в фосфолипидном обмене субклеточных фракций регенерирующей печени животных в условиях стресса в ответ на предварительное воздействие ацетилхолина также имеют возрастные особенности. У зрелых животных происходит увеличение содержания фосфолипидов в постмитохондриальном супернатанте (цитозоль), а у старых, напротив, уменьшение содержания фосфолипидов в данной фракции регенерирующей печени в условиях стресса.

Особенности действия ацетилхолина в субклеточных фракциях регенерирующей печени у зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии схематично показаны на рис. 48.

Несмотря на очевидно разный механизм, действия нейромедиаторов, содержание фосфолипидов в ядерной фракции регенерирующей печени старых животных и при воздействии адреналином, и при воздействии ацетилхолином изменялось в одну сторону — в сторону увеличения (таблица 39). Подобным же образом на оба нейромедиатора (адреналин, ацетилхолин) реагировала фракция постмитохондриального супернатанта (цитозоль) у зрелых крыс — увеличением содержания фосфолипидов (таблица 39).

Воздействие ацетилхолином способствовало внутриклеточным регенераторным процессам, синтезу фосфолипидов, отсюда и увеличение количества фосфолипидов: у зрелых крыс — в цитоплазматических структурах, соответствующих фракции постмитохондриального супернатанта, а у старых крыс — в мембранах ядра и клеточной стенки, соответствующих ядерной фракции.



Рис. 48. Особенности действия ацетилхолина в субклеточных фракциях регенерирующей печени у зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Таким образом, в воздействии адреналина и ацетилхолина на перекисное окисление липидов при регенерации печени в условиях иммобилизационного стресс-воздействия обнаруживаются возрастные особенности, связанные с обменом фосфолипидов мембран субклеточных фракций.

ГЛАВА 5.

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКИСЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ У ЗРЕЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕСС-ВОЗДЕЙСТВИИ

Известно, что с возрастом в нервной системе происходит усиление активности перекисного окисления липидов [5; 111; 142; 149; 246]. Наряду с этим, в условиях стресса возрастная инволюция приводит к снижению адаптивных возможностей нервной системы [220]. Вегетативная нервная система одной из первых реагирует на стресс-воздействие с ответной реакцией на уровне всех систем и органов организма [3; 47; 124; 242]. Иммобилизационное воздействие через психоэмоциональную активацию вегетативной нервной системы запускает в организме серию процессов с развитием стресс-реакции. Вегетативная нервная система опосредованно через гормоны и нейромедиаторы вовлекает внутренние системы и органы в стресс-реакцию с изменением их катаболизма и анаболизма [216; 218; 222]. В литературе недостаточно рассмотрен вопрос о взаимосвязи между изменениями перекисного окисления липидов (ПОЛ) при стрессе и изменениями в состоянии вегетативной нервной системы. Поэтому научный интерес представляют данные по изучению возрастной динамики вовлечения вегетативной нервной системы в регуляцию процессов ПОЛ и антиокислительной активности (АОА) при развитии стресса.

5.1. Изучение действия адреналина и ацетилхолина на изменения перекисного окисления липидов и антиокислительную активность в периферической крови и костном мозге у зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Вегетативная нервная система подразделяется на симпатический и парасимпатический отделы. По ряду научных данных симпатическая система является антагонистом парасимпатической системы, они оказывают различное, в некоторых случаях реципрокное действие на ткани и системы органов [3; 16; 47; 242]. Симпатический и парасимпатический отделы вегетативной нервной системы иннервируют одни и те же органы, часто оказывая на них противоположное действие.

При стрессе первоначально активируется симпатическая система, которая увеличивает частоту и силу сердечных сокращений, сужает просвет кровеносных сосудов, повышает кровяное давление, тормозит двигательную и секреторную активность пищеварительной системы [25; 225]. За работу симпатической нервной системы отвечают нейромедиаторы норадреналин и адреналин.

Активация парасимпатической системы приводит к противоположному эффекту, который будет препятствовать развитию стресс-реакции. Парасимпатическая активация способствует снижению кровяного давления, снижению частоты и силы сердечных сокращений, увеличению как двигательной, так и секреторной активности пищеварительного тракта [47; 61]. Эта система регулирует работу внутренних органов в покое. За работу парасимпатической системы отвечает нейромедиатор ацетилхолин. Однако возрастные особенности этих взаимоотношений в литературе не описаны. Поэтому актуально изучить особенности влияния адреналина и ацетилхолина на изменения ПОЛ и АОО в системе крови при развитии стресса, а также изменение этих процессов при старении.

5.1.1. Влияние ацетилхолина и адреналина на изменение интенсивности процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

У старых интактных крыс величина коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) в сыворотке крови была меньше на 14% ($p>0,05$) по сравнению со зрелыми крысами (таблица 40). Воздействие адреналина на интактных животных разного возраста приводило к уменьшению КПОЛ: у старых крыс КПОЛ уменьшился на 9% ($p>0,05$), у зрелых животных КПОЛ уменьшился на 8% ($p>0,05$). Воздействие ацетилхолина в тех же условиях не вызывало изменений ПОЛ в сыворотке крови зрелых и старых интактных крыс.

При изучении действия адреналина и ацетилхолина на фоне иммобилизационного стресс-воздействия были получены данные, демонстрирующие уменьшение значения КПОЛ у животных. Иммобилизационное стресс-воздействие на фоне введения адреналина приводило к снижению КПОЛ на 10% ($p>0,05$) в сыворотке крови старых крыс, воздействие парасимпатического нейромедиатора ацетилхолина также уменьшало значение КПОЛ на 7% ($p>0,05$) (таблица 40). В сыворотке крови зрелых крыс происходили

Таблица 40

Изменение величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ%) в крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и на фоне введения адреналина и ацетилхолина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	92±24	94±10(1)	108±22	130±12(1)
Адреналин	84±9	85±5	99±27	101±19
Ацетилхолин	96±7	88±9	110±28	106±22

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

аналогичные изменения: адреналин уменьшил КПОЛ на 22% ($p > 0,05$), ацетилхолин уменьшил КПОЛ на 19% ($p > 0,05$) (таблица 40).

Причины, приводящие к уменьшению КПОЛ при стрессе в крови зрелых и старых животных, у адреналина и ацетилхолина различны. Возможно, предварительное воздействие адреналина на крыс перед иммобилизацией могло подготовить организм, и в частности антиокислительную систему (АОС), к окислительному стрессу, вызванному стресс-воздействием. Таким образом, можно предположить, что воздействие адреналина на фоне иммобилизационного стресс-воздействия приводило к ускорению изменений ПОЛ в крови крыс. В данный момент эксперимента наблюдалось не окончание фазы противошока с ростом интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), как в контрольных группах (глава 3, рисунок 13), а стадия резистентности с уменьшением уровня ПОЛ.

При изучении влияния ацетилхолина на ПОЛ в крови крыс выявлялась иная закономерность. Ацетилхолин (парасимпатическая нервная система) является антагонистом к адреналину (симпатическая нервная система), и поэтому его введение в некоторой степени препятствовало действию симпатической нервной системы при стрессе [3; 16; 47; 242]. Данное конкурентное влияние на симпатическую нервную систему могло приводить к замедлению изменений ПОЛ при иммобилизационном стресс-воздействии. Поэтому в этом эксперименте наблюдалось не окончание стадии тревоги или противошока (глава 3, рисунок 13), а стадия перехода от шока к противошоку, где уровень ПОЛ ниже нормы. При сравнении влияния нейрометаболитов на ПОЛ в крови между зрелыми и старыми крысами наблюдалось уменьшение их действия с возрастом, которое можно связать со снижением чувствительности рецепторов клеток у старых крыс [49; 149].

Таким образом, можно заключить, что адреналин ускорял изменения ПОЛ в сыворотке крови крыс при развитии стресс-реакции, а ацетилхолин, напротив, приводил к замедлению изменений ПОЛ. У старых животных воздействие адреналина и ацетилхолина на систему ПОЛ было менее выражено из-за возрастного снижения чувствительности рецепторов клеток к медиаторам.

При изучении коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в сыворотке крови у зрелых и старых крыс были полу-

чены данные, соответствующие изменению КПОЛ. Изучение КАОА в крови интактных животных не выявило различий между зрелыми и старыми крысами. Введение адреналина интактным крысам приводило к увеличению КАОА: у крыс старого возраста КАОА увеличился на 6% ($p>0,05$), у крыс зрелого возраста КАОА увеличился на 10% ($p>0,05$) (таблица 41).

Таблица 41

Изменение величины коэффициента антиокислительной активности (КАОА%) у зрелых и старых крыс в сыворотке крови при иммобилизационном стресс-воздействии и на фоне введения адреналина и ацетилхолина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	96±10	88±8 (2,3)	97±6 (5)	83±7 (4,5)
Адреналин	102±6	107±8 (2)	107±7	99±6 (4)
Ацетилхолин	90±3(1)	102±4 (1,3)	99±7	98±12

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Как было отмечено выше, предварительное введение адреналина крысам привело к активации ПОЛ в сыворотке крови, в ответ на это произошло увеличение общей АОА, что и нашло свое отражение в полученных результатах. Введение ацетилхолина контрольным крысам разного возраста не повлияло на изменения показаний общей АОА в сыворотке крови.

Воздействие адреналина и ацетилхолина на фоне иммобилизации продемонстрировало увеличение значений КАОА в сыворотке крови старых и зрелых крыс. Воздействие адреналина при иммобилизации вызвало увеличение значений КАОА у старых крыс на 22% ($p<0,05$), у зрелых крыс — на 19% ($p<0,05$) (таблица 41). Превентивное воздействие адреналина, по-видимому, инициировало адаптационную реакцию организма, заключающуюся в активации АОС, в результате чего изменения КАОА, вызванные иммобилизацией, могли происходить быстрее. Поэтому в данном случае наблюдалось не начало стадии

резистентности с минимальным значением КАОА в крови иммобилизованных крыс (глава 3, рисунок 14), а более позднее развитие стадии резистентности, связанное с увеличением КАОА в крови крыс.

Воздействие ацетилхолина перед иммобилизацией на зрелых и старых крыс также приводило к увеличению КАОА: у старых крыс в сыворотке крови КАОА увеличился на 16% ($p < 0,05$), у зрелых крыс увеличился на 18% ($p > 0,05$) (таблица 41) по сравнению с интактными крысами соответствующего возраста. Парасимпатический медиатор ацетилхолин оказывал тормозное, противоположное воздействие на системы и органы, которые активируются симпатической системой при стрессе [3; 16; 47; 242], поэтому влияние ацетилхолина приводило к замедлению изменений АОС при развитии стресс-реакции. В связи с чем в эксперименте с воздействием ацетилхолина наблюдалось не начало стадии резистентности с минимальным значением КАОА, а середина более ранней стадии противошока с высокими показателями КАОА в сыворотке крови зрелых и старых животных. Изучение изменений КАОА в возрастном аспекте не выявило достоверных различий в сыворотке крови между старыми и зрелыми крысами.

При изучении нейромедиаторов у животных разного возраста в условиях иммобилизационного стресс-воздействия были получены данные, демонстрирующие наличие антагонизма в их действии на систему ПОЛ и АОА. Влияние симпатического нейромедиатора адреналина на фоне иммобилизации приводило к ускорению изменений процессов ПОЛ и АОА в сыворотке крови зрелых и старых животных. Введение парасимпатического нейромедиатора ацетилхолина, как антагониста симпатической нервной системы, приводило к замедлению изменений ПОЛ и АОА, вызванных иммобилизационным стресс-воздействием. Адреналин в сыворотке крови крыс зрелого и старого возраста ускорял изменения ПОЛ и АОА при стрессе, ацетилхолин замедлял эти изменения. У старых крыс воздействие адреналина и ацетилхолина на процессы ПОЛ и АОА в крови приводило к менее выраженным изменениям, чем у крыс зрелого возраста, что происходило в результате возрастзависимого снижения чувствительности рецепторов клеток у старых крыс к адреналину и ацетилхолину.

5.1.2. Влияние ацетилхолина и адреналина на изменения интенсивности процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в миелокариocyтах костного мозга зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Сравнение интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в миелокариocyтах костного мозга между зрелыми и старыми интактными крысами не показало достоверного различия (таблица 42).

Введение адреналина до иммобилизационного воздействия зрелым и старым крысам не приводило к изменениям КПОЛ в миелокариocyтах. Как было отмечено в третьей главе, изменения ПОЛ в миелокариocyтах могли происходить благодаря первоначальным изменениям в межклеточной среде костного мозга. Кроме того, костный мозг, по сравнению с кровью, активнее и раньше реагировал на изменения ПОЛ при экстремальных воздействиях [56; 142; 243]. Поэтому воздействие адреналина на организм крыс приводило к преждевременной инициации некоторых механизмов адаптации к стрессу в виде активации антиокислительной активности (АОА) в костном мозге. В свою очередь, увеличение интенсивности АОА в миелокариocyтах костного мозга крыс приводило к инактивации ПОЛ.

Таблица 42

Изменение величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ%) в миелокариocyтах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и на фоне введения адреналина и ацетилхолина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	98±21	109±13(1)	100±8	143±14(1)
Адреналин	98±17	93±8	103±7	124±28
Ацетилхолин	105±16	93±21	123±20	112±17

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

Поэтому в эксперименте не наблюдалось значимых изменений КПОЛ в миелокариоцитах при воздействии адреналина.

Введение ацетилхолина до иммобилизации зрелым и старым крысам приводило к увеличению КПОЛ в миелокариоцитах (таблица 42). У старых крыс ацетилхолин вызывал увеличение КПОЛ в миелокариоцитах на 7% ($p < 0,05$), у зрелых крыс значение КПОЛ увеличивалось на 23% ($p < 0,05$) по сравнению с интактными крысами. Ацетилхолин — это короткоживущий нейромедиатор, который быстро инактивируется ферментом ацетилхолинэстеразой (КФ 3.1.1.7). По некоторым данным, свободный ацетилхолин может накапливаться в эритроцитах и клетках костного мозга [80; 284; 355]. Действие ацетилхолина сопряжено с образованием NO (оксида азота), который может влиять на увеличение ПОЛ в мембранах клеток [47; 59; 125]. Поэтому представляется возможным выдвинуть предположение, что некоторое количество свободного ацетилхолина в клетках костного мозга крыс способно связываться и депонироваться. Впоследствии ацетилхолин высвобождается и через NO-систему при одновременном увеличении концентрации ионов кальция увеличивает активность ПОЛ. Можно также предположить, что в результате действия этого механизма в межклеточном окружении клеток костного мозга крыс увеличение ПОЛ может происходить интенсивнее, чем в миелокариоцитах.

Изучение влияния адреналина и ацетилхолина на миелокариоциты зрелых и старых крыс при иммобилизации подтвердило вышесказанное предположение о влиянии этих нейрометаболитов на скорость изменений ПОЛ и АОА при развитии стресс-реакции. Введение адреналина старым и зрелым крысам приводило к ускорению изменений процессов ПОЛ в миелокариоцитах, поэтому в данном эксперименте наблюдалось не начало стадии резистентности с высоким уровнем ПОЛ, а ее развитие с приведением уровня ПОЛ в норму (глава 3, рис. 26). У зрелых и старых животных уровень КПОЛ при воздействии адреналина на клетки костного мозга в среднем уменьшился на 14% ($p > 0,05$) (таблица 42) по сравнению с интактными крысами.

Введение животным ацетилхолина приводило к обратному эффекту — замедлению изменений процессов ПОЛ, и в данном

опыте наблюдалось не начало стадии резистентности, а предшествующая ей середина фазы противошока (глава 3, рис. 26). У старых крыс введение ацетилхолина в условиях иммобилизации уменьшало КПОЛ в миелокариocyтах на 15% ($p > 0,05$), у зрелых крыс произошло уменьшение КПОЛ на 22% ($p > 0,05$) (таблица 42) по сравнению с интактными крысами аналогичного возраста.

Таким образом, можно резюмировать, что адреналин и ацетилхолин, как нейромедиаторы симпатической и парасимпатической нервной системы, действовали на систему ПОЛ/АОА миелокариocyтов так же, как и на периферическую кровь. При нормальных условиях адреналин не влиял на изменения интенсивности ПОЛ в миелокариocyтах костного мозга из-за более высокой реактивности АОС. В свою очередь, ацетилхолин увеличивал уровень ПОЛ в миелокариocyтах, что можно связать с поэтапным освобождением связанного ацетилхолина из этих клеток и его дальнейшим действием, приводящим к увеличению ПОЛ в миелокариocyтах и межклеточной среде (МС) костного мозга.

При изучении воздействия нейромедиаторов на фоне иммобилизационного воздействия были получены данные, показывающие наличие антагонизма между адреналином и ацетилхолином в их действии на систему ПОЛ и АОА. Адреналин в клетках костного мозга у зрелых и старых крыс ускорял изменения ПОЛ и АОА при стрессе, ацетилхолин, напротив, замедлял изменения ПОЛ и АОА.

Изучение процессов ПОЛ в межклеточной среде (МС) костного мозга зрелых и старых интактных крыс не выявило между ними возрастного различия (таблица 43). У зрелых и старых крыс в МС костного мозга адреналин не влиял на изменения ПОЛ, что может быть связано с активацией АОА, вызванной действием катехоламинов [128; 170; 396; 477].

Ацетилхолин, напротив, способствовал поддержке повышенного уровня ПОЛ в межклеточной среде костного мозга зрелых и старых крыс до иммобилизационного стресс-воздействия. Введение ацетилхолина до иммобилизации крысам зрелого и старого возраста привело к увеличению значения КПОЛ в МС костного мозга. У старых крыс величина КПОЛ в межклеточной среде (МС) костного мозга после введения ацетилхолина увеличилась на 36% ($p > 0,05$), у зрелых

**Изменение величины коэффициента перекисного окисления
липидов (КПОЛ%) у зрелых и старых крыс в межклеточной среде
костного мозга при иммобилизационном стресс-воздействии
и на фоне введения адреналина и ацетилхолина**

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	93±21(3)	121±17	92±15(3)	142±22(1,2)
Адреналин	99±13	104±27	95±13	109±10(1)
Ацетилхолин	127±17	105±23	117±33	86±15(2)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

крыс КПОЛ увеличился на 27% ($p > 0,05$) (таблица 43) по сравнению с интактными крысами.

Это могло происходить в результате пролонгированного прооксидантного действия ацетилхолина, связанного с постепенным высвобождением нейромедиатора из клеток, а в дальнейшем — к выходу в МС костного мозга ионов кальция, которые способствовали увеличению активности фермента ФЛА2, продуцирующего субстрат для активации процессов ПОЛ [47; 49; 59; 125; 124]. С другой стороны, действие ацетилхолина на рецепторы клеток сопряжено с активацией фермента NO-синтазы (NOS) (КФ 1.14.13) и образованием нейромедиаторного посредника оксида азота NO. Оксид азота, согласно некоторым данным, способен активировать образование активных форм кислорода [284], что в итоге приводит к активации ПОЛ в клетках и тканях организма.

Введение адреналина и ацетилхолина при иммобилизационном стресс-воздействии зрелым и старым крысам приводило к изменению скорости протекания реакций ПОЛ в МС костного мозга. Адреналин в МС костного мозга зрелых и старых крыс ускорял изменения ПОЛ при иммобилизационном стресс-воздействии, ацетилхолин вел себя как антагонист к адреналину, с замедлением изменений ПОЛ в тех же условиях. Введение адреналина крысам зрелого и старого возраста при иммобилизационном стресс-воздействии приводило

к уменьшению показателей КПОЛ в МС костного мозга: у старых крыс КПОЛ уменьшился на 14% ($p>0,05$), у зрелых крыс — на 23% ($p<0,05$) (таблица 42) по сравнению с интактными крысами. Так как под влиянием адреналина происходило ускорение изменений ПОЛ при стрессе, то в данном случае наблюдалось не начало стадии резистентности, а ее середина, с понижением уровня ПОЛ в межклеточной среде костного мозга крыс (глава 3, рисунок 28).

В случае использования ацетилхолина наблюдался противоположный эффект — происходило замедление изменений ПОЛ при стресс-реакции на иммобилизацию. Ацетилхолин в МС костного мозга старых крыс при стрессе уменьшал КПОЛ на 13% ($p>0,05$), у зрелых крыс — на 39% ($p<0,05$) (таблица 43) по сравнению с интактными крысами.

При изучении межклеточной среды (МС) красного костного мозга было выяснено, что изменения процессов ПОЛ в МС костного мозга происходили сильнее, чем непосредственно в костном мозге. Поэтому можно предположить, что большинство изменений ПОЛ в миелокариоцитах костного мозга происходили вследствие первоначальной активации этих процессов в МС костного мозга.

При анализе возрастных различий изменений КПОЛ в миелокариоцитах и в МС костного мозга были получены данные, демонстрирующие уменьшение с возрастом способности отвечать на воздействия нейрометаболитов. Возможно, с возрастом у старых крыс наблюдается уменьшение способности рецепторов клеток связываться с адреналином и ацетилхолином. Происходит возрастная деградация процессов связывания нейромедиаторов или гормонов с белковыми рецепторами на поверхности клеток, или, другими словами, «старение рецепторов» [5; 149].

При изучении изменения величины КАОА в миелокариоцитах у зрелых и старых крыс были получены данные, коррелирующие с результатами по изменению КПОЛ. У интактных зрелых и старых крыс возрастных различий в изменении величины КАОА выявлено не было. Воздействие адреналина также не привело к значимым изменениям величины КАОА в миелокариоцитах зрелых и старых крыс (таблица 44), в данном случае имел место этап завершения действия адреналина на организм животных с возвращением

показателей КАОА миелокариоцитов к первоначальным значениям. Введение ацетилхолина до иммобилизации животным разного возраста вызвало некоторое увеличение КАОА, которое может быть результатом ответной реакции системы АОА на увеличение количества свободных радикалов. У старых крыс введение ацетилхолина до иммобилизации увеличило значение КАОА в миелокариоцитах на 11% ($p>0,05$), у зрелых крыс — на 28% ($p>0,05$) (таблица 44) по сравнению с интактными крысами.

Изучение действия нейромедиаторов на систему антиокислительной активности (АОА) миелокариоцитов крыс при развитии стресс-реакции на иммобилизационное воздействие подтвердило высказанное выше предположение об ускорении или замедлении интенсивности реакций АОА, в зависимости от вида нейромедиатора. Воздействие адреналина на животных существенно увеличивало величину КАОА в миелокариоцитах старых крыс на 94% ($p<0,05$), зрелых крыс — на 74% ($p<0,05$) (таблица 44) по сравнению с интактными животными. При сравнении полученных данных по влиянию адреналина на КАОА миелокариоцитов в условиях иммобилизации (глава 5, таблица 44) с данными по динамике КАОА при развитии стресс-реакции в костном мозге (глава 3, рисунок 34) можно отметить, что адреналин ускорял изменения АОА в костном мозге. В результате воздействия адреналина на миелокариоциты крыс в условиях иммо-

Таблица 44

Изменение величины коэффициента антиокислительной активности (КАОА%) у зрелых и старых крыс в миелокариоцитах при иммобилизационном стресс-воздействии и на фоне введения адреналина и ацетилхолина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	91±28	63±9(1, 2)	89±14	74±12(3)
Адреналин	83±8(4)	122±13(1, 4)	89±13(5)	129±13(3, 5)
Ацетилхолин	101±16	100±17(2)	114±30	86±11

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

билизации наблюдалось не начало стадии резистентности (глава 3, рисунок 34), а более поздний этап развития стадии резистентности с увеличением КАОА в миелокариоцитах.

Введение ацетилхолина зрелым и старым крысам при стрессе приводило к замедлению изменений в АОА миелокариоцитах, при этом наблюдалось не начало фазы резистентности (глава 3, рисунок 34), а более ранний этап — середина стадии противошока с тенденцией к увеличению значений КАОА. У старых крыс при иммобилизации и после введения ацетилхолина уровень КАОА в костном мозге увеличился на 58% ($p < 0,05$), у зрелых крыс — на 16% ($p < 0,05$) (таблица 44) по сравнению с интактными крысами. Таким образом, как и в ситуации с изменением величины КПОЛ, имел место эффект ускорения изменения АОА в миелокариоцитах при воздействии адреналином и эффект замедления изменения АОА при воздействии ацетилхолином.

Эффект от воздействия адреналина и ацетилхолина на миелокариоциты костного мозга был сильнее по сравнению с воздействием этих же нейромедиаторов на периферическую кровь. При сравнении показателей КПОЛ и КАОА между периферической кровью и миелокариоцитами можно прийти к выводу, что миелокариоциты были более показательны в изменении данных параметров. То есть реактивность миелокариоцитов и межклеточного окружения на экстремальное воздействие или введение нейрометаболитов была интенсивнее, чем реактивность периферической крови.

Наиболее сильно на воздействие нейромедиаторов реагировала межклеточная среда костного мозга, возможно, являясь первопричиной дальнейших изменений ПОЛ и АОА непосредственно в клетках костного мозга. Введение старым и зрелым крысам адреналина незначительно влияло на изменения величины КПОЛ и КАОА, что, возможно, связано с высокой эффективностью реакции клеток костного мозга на увеличение количества свободных радикалов, возникшее в результате действия катехоламинов [16; 128]. Ацетилхолин, напротив, способствовал поддержанию повышенного уровня ПОЛ в клетках костного мозга, возможно, это могло происходить в результате постепенного высвобождения связанного ацетилхолина и его влияния на активацию NO-синтазы и ФЛА2, способствующих образованию свободных радикалов [47; 59; 125].

При стрессе в миелокариоцитах и межклеточной среде костного мозга зрелых и старых крыс адреналин вызывал ускорение изменения ПОЛ и АОА, ацетилхолин замедлял изменения ПОЛ и АОА. Все выявленные в миелокариоцитах и МС костного мозга возрастные различия по влиянию нейрометаболитов на ПОЛ и АОА являются результатом ослабления с возрастом качества работы рецепторного аппарата клетки. Рецепторов с возрастом становится меньше, в белковых субъединицах рецепторов накапливаются ошибки, что может приводить к снижению интенсивности качества связи между нейромедиатором и рецептором, а также к нарушению передачи внутриклеточных сигналов другим посредникам в клетке [49; 97; 220].

5.2. Влияние адреналина и ацетилхолина на процессы перекисного окисления липидов в миелокариоцитах зрелых и старых крыс *in vitro*

Адреналин и ацетилхолин в результате действия специфических ферментных систем *in vivo* быстро инактивируются. Вследствие этого действие адреналина и ацетилхолина на организм *in vivo* является непродолжительным. Адреналин в крови и костном мозге разрушается через реакции окислительного дезаминирования под действием моноаминоксидаз или метилтрансфераз [290; 363; 432]. Ацетилхолин в организме инактивируется еще быстрее под действием холинэстеразы [47; 524]. Кроме того, в костном мозге помимо миелокариоцитов находятся другие клетки и клеточные структуры (адипоциты, нервные окончания, кровеносные сосуды соединительнотканые компоненты), которые также вносят свой вклад в изменения процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности (АОА) при воздействии адреналина и ацетилхолина. В литературе имеются единичные данные, описывающие действие адреналина и ацетилхолина на ПОЛ в миелокариоцитах *in vitro*. Поэтому представляет интерес изучить действие адреналина и ацетилхолина на изолированные клетки костного мозга (миелокариоциты).

5.2.1. Изменение перекисного окисления липидов в миелокариоцитах зрелых и старых крыс при инкубации с адреналином *in vitro*

В миелокариоцитах интактных (контроль) зрелых крыс *in vitro* величина коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) была больше на 8% ($p<0,05$), по сравнению со старыми крысами (таблица 45, рисунок 49). Полученный результат можно объяснить тем, что с возрастом в мембранах миелокариоцитов может происходить увеличение доли липидной составляющей с преобладанием холестерина и других слабоокисляемых липидов (насыщенные жирные кислоты), которые препятствуют распространению процессов липопероксидации.

Таблица 45

Динамика величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ%) в миелокариоцитах зрелых и старых крыс при инкубации с адреналином *in vitro*

<i>Время (с)</i> \ <i>Группы</i>	<i>Миелокариоциты старых крыс</i>	<i>Миелокариоциты зрелых крыс</i>
Контроль	96,3 ±2,2	103,7 ±1,9**
5	109,3 ±9,9*	123,4 ±4,9*
10	124,8 ±8,5*	122,4 ±6,1*
20	123,2 ±2,9*	116,9 ±3,5*
40	114,9 ±5,0*	115,8 ±2,4*
60	113,6 ±3,3	116,5 ±0,3*
180	82,4 ±8,8*	105, ±3,0**
600	76,2 ±4,1*	107,9 ±6,5**
1800	97,1 ±2,1	93,4 ±1,1* **
3600	93,6 ±2,2	109,9 ±5,5**
5400	93,8 ±7,1	119,1 ±7,4* **
7200	100,7 ±6,1	103,5 ±8,6

Примечание: * — $p<0,05$ при сравнении с контролем (0 секунд);

** — $p<0,05$ при сравнении со старыми крысами.

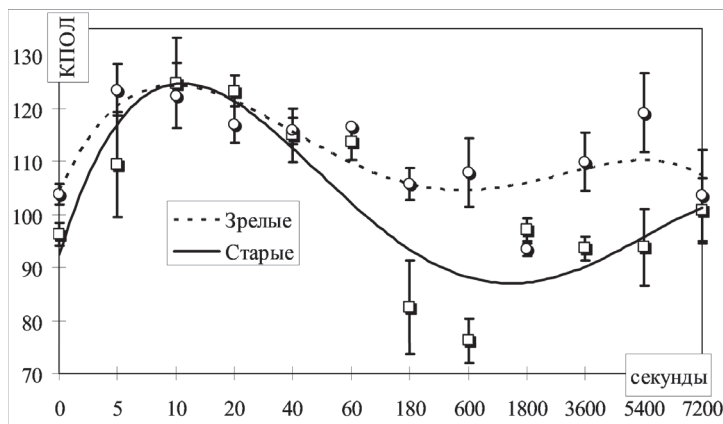


Рис. 49. Изменение величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ %) в миелокариocyтах зрелых и старых крыс при инкубации с адреналином *in vitro*

Введение адреналина в инкубационную среду с миелокариocyтами зрелых и старых крыс приводило к увеличению КПОЛ в этих клетках. При исследовании в возрастном аспекте было выявлено, что максимальный подъем КПОЛ у зрелых крыс наблюдался на 5-й секунде эксперимента (КПОЛ увеличился на 20% ($p < 0,05$), а у старых крыс на 10-й секунде КПОЛ увеличился на 28% ($p < 0,05$) по сравнению с нормой) (таблица 45, рис. 49). Такое возрастное различие, выраженное в более поздней активации КПОЛ у старых крыс, свидетельствует в пользу того, что с возрастом количество и качество рецепторов (адренорецепторы) на миелокариocyтах уменьшается, что может быть причиной поздней, по сравнению со зрелыми крысами, реакции на введение адреналина и увеличение ПОЛ.

Через некоторое время после увеличения КПОЛ, вызванного адреналином, в исследуемых клетках животных происходило закономерное понижение его уровня. Максимальное понижение, как в клетках старых, так и зрелых крыс, происходило через 3 минуты после добавления в инкубационную среду адреналина. У зрелых крыс величина КПОЛ в инкубируемых миелокариocyтах понизилась на 18% ($p < 0,05$) по сравнению с максимальным увеличением,

произошедшим на 5-й секунде; у старых крыс — на 32% ($p < 0,05$) по сравнению с максимумом на 10-й секунде (таблица 45, рис. 49).

При сравнении динамики КПОЛ в миелокариocyтах между зрелыми и старыми крысами можно сделать вывод, что на протяжении всего эксперимента в клетках зрелых крыс уровень КПОЛ был выше, чем в клетках старых крыс, но амплитуда изменения КПОЛ, в свою очередь, была значительно выше в клетках старых крыс (рис. 49). У старых крыс в кроветворном микроокружении костного мозга преобладает липидная фракция с повышенным содержанием слабо-восприимчивых к перекисному окислению липидов. Это, в первую очередь, холестерин и насыщенные жирные кислоты, которые могут выполнять функцию структурных антиоксидантов. Холестерин и насыщенные жирные кислоты своим непосредственным нахождением в месте повышенного перекисного окисления препятствуют распространению свободных радикалов, либо связываясь с ними, либо игнорируя их. В данном случае у старых крыс неферментативная антиокислительная система усиливается структурным антиоксидантным эффектом липидов, у зрелых крыс их меньше и поэтому величина КПОЛ в миелокариocyтах зрелых крыс была больше, чем у старых (таблица 45, рис. 49).

Как было отмечено выше, введение адреналина в инкубационную среду вызывало увеличение ПОЛ в миелокариocyтах обоих возрастов. Дальнейший «сценарий» изменения ПОЛ в этих клетках развивался в соответствии с теми условиями, которые имеются в клетках. Причина увеличения ПОЛ при введении адреналина могла заключаться в катаболической природе гормона [53; 100]. В клетке после серии различных реакций, вызванных адреналином, могло происходить увеличение количества распадов макромолекул до их составляющих, в частности триглицеридов и фосфолипидов до жирных кислот, которые являются основным субстратом ПОЛ. Тем самым фоновый уровень ПОЛ, который присутствует в норме в каждой клетке, может увеличиваться (рис. 50).

При изучении ПОЛ в инкубируемых миелокариocyтах было обнаружено явление биолюминесценции с возможной активацией ПОЛ. Введение адреналина в инкубационную среду клеток в соотношении 4 молекулы нейромедиатора на 1 миелокариоцит

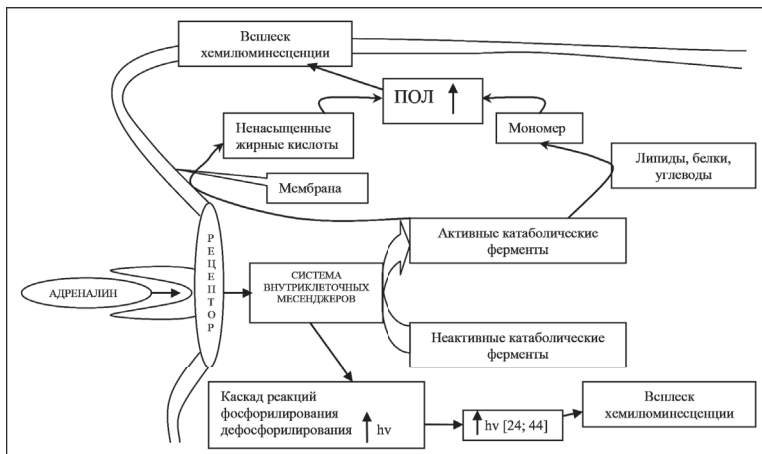


Рис. 50. Схема механизма, приводящего к увеличению интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и хемилюминесценции при воздействии на миелокариocyты адреналином *in vitro*

приводило к многократному увеличению свечения при хемилюминесцентном анализе. Максимальное увеличение свечения в миелокариocyтах зрелых крыс наблюдалось на 17-й секунде после введения адреналина (свечение увеличилось в 6 раз; $p < 0,05$) у старых крыс на 11-й секунде (свечение увеличилось в 12,5 раза; $p < 0,05$) (рис. 51).

Подобное увеличение свечения может быть вызвано двумя причинами. Первая причина — это свечение, вызванное увеличением ПОЛ в результате катаболического воздействия адреналина, что увеличило количество субстрата для свободнорадикальных реакций (рис. 50).

Вторая причина — это свечение, вызванное каскадом биохимических реакций, инициируемых адреналином и происходящих в сочетании с фотохимическими проявлениями. Большинство этих реакций связано с фосфорилированием и дефосфорилированием макроэргических связей. Скорее всего, в ходе этих реакций и выделяется некоторое количество квантов света, которые могут вызывать значительное увеличение хемилюминесценции.

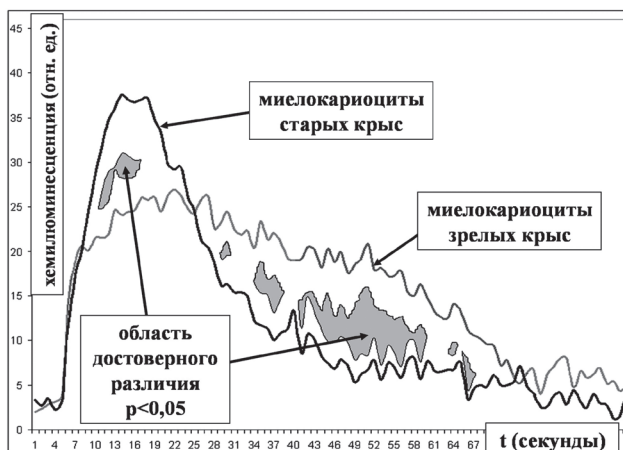


Рис. 51. Сравнительная хемилюминограмма (без индуцирования перекисью водорода) миелокариоцитов зрелых и старых крыс при инкубации с адреналином *in vitro*

На графике видно (рис. 51), что свечение, вызванное адреналином в миелокариocyтах старых крыс, особенно в начале хемилюминесцентного анализа, достоверно превышает аналогичное свечение клеток зрелых крыс.

Во-первых, в миелокариocyтах старых крыс может быть повышенное содержание легкоокисляемых субстратов, приводящих к большей активации процессов ПОЛ по сравнению со зрелыми крысами.

Во-вторых, большее свечение миелокариocyтов старых крыс под влиянием адреналина может свидетельствовать о нарушении с возрастом передачи сигнала от гормона (нейромедиатора) в клетку. Возможно, что в механизм передачи сигнала от рецептора в клетку могут вовлекаться посторонние химические реакции с катаболической направленностью, что связано с возрастзависимым снижением качества функционирования адренорецепторов.

В-третьих, в миелокариocyтах старых крыс уменьшается активность ряда ферментов, участвующих в передаче и преобразовании сигнала от гормона (нейромедиатора) в клетку. Одним из таких ключевых

ферментов может быть фосфодиэстераза (ФДЭ). Вследствие уменьшения активности ФДЭ количество циклической аденозин монофосфорной кислоты (цАМФ) или циклической гуанозин монофосфорной кислоты (цГМФ) внутриклеточных посредников между гормоном (нейромедиатором) и клеткой не уменьшается так быстро, как в клетках зрелых крыс. Так как цАМФ участвует во многих реакциях фосфорилирования, дефосфорилирования и активации ферментов, то можно предположить, что повышенное его количество в миелокариоцитах старых крыс будет сильнее вызывать свечение в этих клетках при воздействии на них адреналином.

5.2.2. Изменение перекисного окисления липидов в миелокариоцитах зрелых и старых крыс при инкубации с ацетилхолином *in vitro*

Введение ацетилхолина в инкубационную среду с миелокариоцитами зрелых и старых крыс привело к увеличению интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в этой среде, максимальное увеличение показателя КПОЛ происходило через 10 секунд с момента внесения ацетилхолина. В миелокариоцитах зрелых крыс величина КПОЛ увеличилась на 47% ($p < 0,05$), в миелокариоцитах старых крыс — на 37,4% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (таблица 46).

Известно, что в клетках крови (эритроциты, нейтрофилы, лимфоциты, тканевые базофилы) имеются внесинаптические мускариновые холинорецепторы (М–ХР), взаимодействующие с ацетилхолином, (их типы пока окончательно не идентифицированы) [47; 80; 125; 284; 355]. Увеличение значений КПОЛ при влиянии ацетилхолина происходит вследствие специфических внутриклеточных реакций, вызванных этим нейромедиатором. В первую очередь, это связано с катаболическим влиянием на мембраны клетки, в ходе которых значительно увеличивается количество субстрата для протекания свободнорадикальных процессов.

Существует несколько механизмов передачи влияния ацетилхолина на клетку, чаще всего это заканчивается изменением концентрации внутриклеточного кальция. Заслуживает интереса меха-

**Динамика величины коэффициента перекисного окисления
липидов (КПОЛ%) в миелокариоцитах зрелых и старых
крыс при инкубации с ацетилхолином in vitro**

<i>Время (с)</i>	<i>Группы</i>	<i>Миелокариоциты старых крыс</i>	<i>Миелокариоциты зрелых крыс</i>
Контроль		91,4 ±14,4	108,6 ±10,5
5		127,0 ±11,5*	126,4 ±10,2
10		128,8 ±10,9*	155,6 ±2,2* **
20		120,4 ±13,4*	146,4 ±7,1* **
40		122,6 ±11,9*	133,5 ±12,9*
60		128,2 ±11,1*	133,8 ±3,3*
180		97,4 ±7,4	105,7 ±12,6
600		98,4 ±8,1	99,8 ±13,8
1800		102,5 ±9,5	108,2 ±18,3
3600		96,1 ±5,5	116,6 ±7,2**
5400		85,5 ±10,9	109,5 ±13,7
7200		104,9 ±5,9	126,9 ±8,8**

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контролем (0 секунд);
 ** — $p < 0,05$ при сравнении со старыми крысами.

низм, изменяющий физико-химические свойства мембран клетки, в который вовлечены мускариновые холинорецепторы (М–ХР2, М–ХР3). Ацетилхолин опосредованно через М–ХР, находящийся на мембране клетки, активирует специфический Gi белок, который непосредственно стимулирует внутриклеточную фосфолипазу С, которая впоследствии гидролизует фосфолипиды мембраны с выходом легкоокисляемых продуктов (диацилглицериды, неэстерифицированные жирные кислоты и т. д.), индуцирующих активацию ПОЛ.

Спустя 3 минуты от начала эксперимента (180 секунд после введения ацетилхолина) уровень ПОЛ в миелокариоцитах зрелых и старых крыс приходит к норме (таблица 46, рис. 52).

Понижением величины КПОЛ в миелокариоцитах крыс могли являться две причины. Во-первых, могло происходить уменьшение количества ацетилхолина под действием фермента холинэстеразы. Так

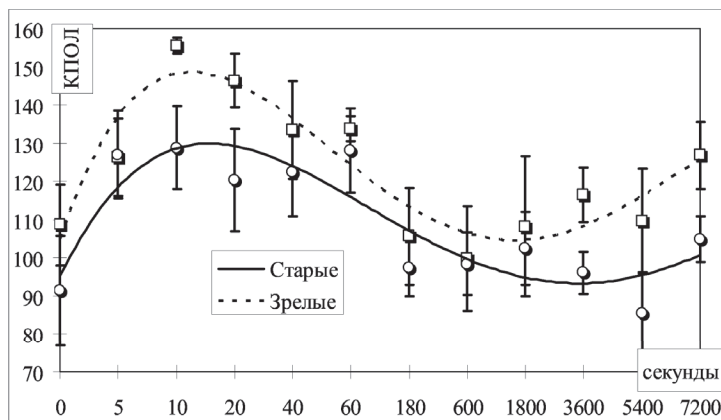


Рис. 52. Изменение величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ %) в миелокариocyтах зрелых и старых крыс при инкубации с адреналином *in vitro*

как на миелокариocyтах присутствуют внесинаптические мускариновые холинорецепторы, то должен присутствовать фермент холинэстераза, гидролизующий ацетилхолин. В противном случае, полученное в эксперименте уменьшение КПОЛ в миелокариocyтах происходило бы не через 3 минуты, а на первых секундах эксперимента.

Во-вторых, вследствие протекания свободнорадикальных реакций количество легкоокисляемого субстрата (ди- и моноацилглицериды, неэстерифицированные жирные кислоты, простагландины и т.д.) уменьшается, и, следовательно, активность процессов ПОЛ также будет уменьшаться.

В течение последующего часа эксперимента (3600 секунд) заметных изменений в КПОЛ не наблюдалось, но начиная со второго часа инкубации и далее наблюдался рост величины КПОЛ в миелокариocyтах зрелых и старых крыс (таблица 46, рис. 52). Причем в миелокариocyтах зрелых крыс в течение 1 часа (3600 секунд) эксперимента КПОЛ увеличился на 20,5% ($p < 0,05$), а через 2 часа (7200 секунд) — на 22,0% ($p < 0,05$) по сравнению со старыми крысами. Возможной причиной такого увеличения КПОЛ на поздних сроках эксперимента могла явиться гибель клеток в инкубационной среде.

При сравнении динамики ПОЛ в миелокариocyтах зрелых и старых крыс можно увидеть, что в клетках зрелых крыс величина КПОЛ была выше, чем в клетках старых крыс (рис. 52). На протяжении всего эксперимента с инкубацией миелокариocyтов в присутствии ацетилхолина уровень ПОЛ в клетках зрелых крыс был выше на 14% ($p > 0,05$) по сравнению с миелокариocyтами старых крыс.

Описанные различия можно объяснить тремя причинами. Во-первых, в миелокариocyтах зрелых крыс количество и качество внесинаптических холинорецепторов должно преобладать по сравнению с миелокариocyтами старых крыс. Как было отмечено выше, работа холинорецепторов сопровождается увеличением интенсивности процессов ПОЛ, следовательно, чем больше рецепторов, тем выше ПОЛ. В доказательство этого можно отметить, что на 10-й и 20-й секундах после добавления ацетилхолина, когда ПОЛ достигает максимума, в миелокариocyтах зрелых крыс величина КПОЛ была выше на 26,6% ($p < 0,05$), чем в миелокариocyтах старых крыс (таблица 46, рис. 52).

Во-вторых, у старых крыс как было отмечено выше, в кровяном микроокружении костного мозга преобладает липидная фракция с повышенным содержанием липидов, слабовосприимчивых к перекисному окислению (холестерин, насыщенные жирные кислоты), которые в данном случае выполняют функцию структурных антиоксидантов, то есть своим непосредственным нахождением в месте повышенного перекисного окисления они препятствуют распространению свободных радикалов. Другими словами, в миелокариocyтах старых крыс более высокая общая АОА, и это достигается тем, что с возрастом в миелокариocyтах происходит увеличение доли структурных неферментативных антиоксидантов.

В-третьих, в миелокариocyтах зрелых крыс интенсивность пролиферации выше, чем в миелокариocyтах старых крыс, не исключено, что увеличенная клеточная пролиферация, может сопровождаться более высокими значениями КПОЛ, что и наблюдалось.

Введение ацетилхолина в инкубационную среду с миелокариocyтами (без инициализации перекисью водорода) привело к многократному увеличению свечения при хемилюминесцентном анализе

(рис. 53). Максимальное увеличение свечения у зрелых крыс наблюдалось на 17-й секунде после введения ацетилхолина (свечение увеличилось в 19 раз), а у старых крыс — на 15-й секунде (свечение увеличилось в 12 раз).

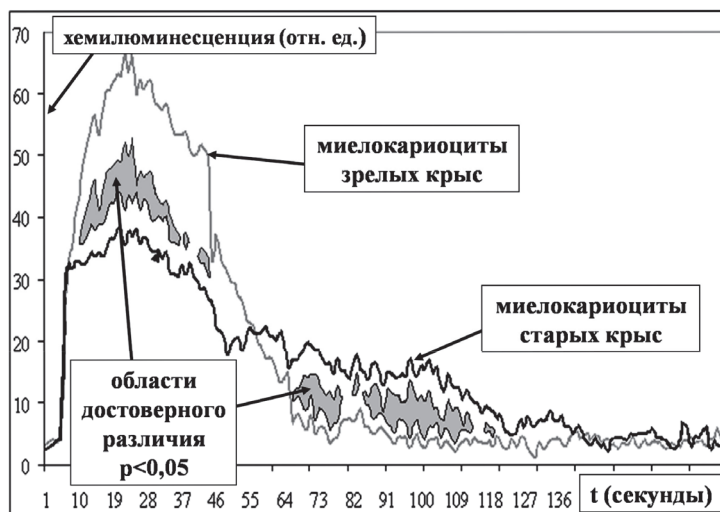


Рис. 53. Сравнительная хемилюминограмма (без индуцирования перекисью водорода) миелокарицитов зрелых и старых крыс при инкубации с ацетилхолином *in vitro*

Подобное увеличение свечения, возможно, было вызвано двумя причинами. Первая причина — это свечение, связанное с увеличением интенсивности ПОЛ в результате действия ацетилхолина (рис. 53). Ацетилхолин увеличивает в мембране и приmemбранном пространстве клеток количество легкоокисляемого субстрата для процессов ПОЛ, в результате чего интенсивность ПОЛ возрастает.

Вторая причина — ацетилхолин внутри клетки активировал фосфолипазы и протеинкиназы, которые в основном катализируют катаболические реакции, связанные с распадом ковалентных связей (фосфорилирования, дефосфорилирования и т.д.). Скорее всего,

в ходе этих реакций и происходит выделение некоторого количества квантов света, которые и вызывают в эксперименте увеличение свечения при хемилюминесцентном анализе.

На графике видно (рис. 53), что свечение, вызванное ацетилхолином в миелокариocyтах зрелых крыс, особенно в первые 30 секунд хемилюминесцентного анализа, достоверно превышало аналогичное свечение в миелокариocyтах старых крыс. В предыдущей главе в случае с адреналином ситуация была обратная: на первых секундах реакции свечение выше в миелокариocyтах старых крыс по сравнению со зрелыми крысами.

При обобщении результатов можно отметить, что воздействие адреналина и ацетилхолина приводило к увеличению величины КПОЛ в миелокариocyтах зрелых и старых крыс.

Введение адреналина в инкубационную среду миелокариocyтов приводило к большей активации процессов ПОЛ в клетках старых крыс по сравнению с клетками зрелых крыс. Введение ацетилхолина в инкубационную среду с миелокариocyтами приводило к обратным результатам: активация процессов ПОЛ была выше в клетках зрелых крыс по сравнению с клетками старых крыс. Таким образом, с возрастом уменьшается вклад парасимпатического отдела вегетативной нервной системы и увеличивается вклад симпатического отдела в активацию ПОЛ (рис. 54).

При изучении ПОЛ в инкубируемых миелокариocyтах было обнаружено явление биолуминесценции с активацией ПОЛ. Введение адреналина и ацетилхолина в инкубационные среды с миелокариocyтами приводило к сильному, но кратковременному увеличению свечения, связанного с работой нейромедиаторов.

Адреналин в большей степени увеличивал люминесценцию в миелокариocyтах старых крыс по сравнению со зрелыми крысами. Причина повышенного свечения в миелокариocyтах старых крыс могла быть связана наличием в них большего количества легкоокисляемого субстрата и их повышенной доступности для процессов ПОЛ. С возрастом происходит снижение чувствительности рецепторов клеток старых крыс к адреналину и увеличение ошибок в передаче сигнала от гормона (нейромедиатора) в клетку [7; 244], что и приводит к активации ПОЛ.

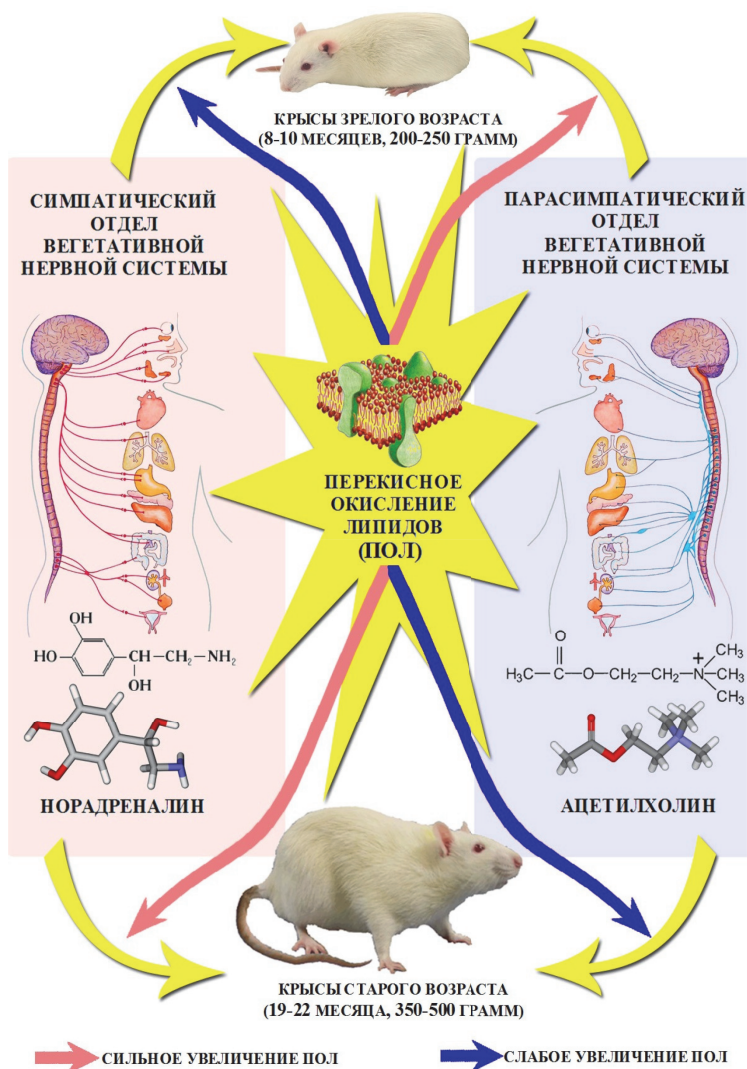


Рис. 54. Возрастные особенности участия симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы в изменении интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) системы крови крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Ацетилхолин в большей степени увеличивал люминесценцию в миелокариocyтах зрелых крыс по сравнению со старыми крысами. Причина повышенного свечения в миелокариocyтах зрелых крыс может заключаться в большем количестве и качестве холинорецепторов, находящихся в них [349; 374]. Возможно, с увеличением возраста происходит уменьшение количества холинорецепторов, кроме того, их нормальное функционирование тоже может снижаться. Причиной этому могут служить аутоиммунные реакции и нарушения в синтезе белковых субъединиц холинорецепторов и сопутствующих белков. Это соответствует опубликованным научным данным, в которых изложена концепция, отмечающая уменьшение с возрастом влияния парасимпатического отдела (ацетилхолин) вегетативной нервной системы в организме человека [100; 5; 284].

Таким образом, в заключение в данной главе можно отметить, что воздействие и адреналина, и ацетилхолина на крыс зрелого и старого возраста приводило к увеличению величины интегрального показателя перекисного окисления липидов (ПОЛ) в системе крови. При этом адреналин способствовал быстрому и более значимому увеличению ПОЛ, а ацетилхолин — более продолжительному, но менее значимому по величине изменению этого показателя. В миелокариocyтах и межклеточной среде костного мозга прооксидантный эффект от введения нейромедиаторов (адреналин, ацетилхолин) проявлялся более выраженно, чем в периферической крови, что могло быть связано с наличием в костном мозге большего числа акцепторов этих нейромедиаторов. Воздействие адреналина при иммобилизационном стрессе увеличивало в системе крови скорость изменения процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности (АОА), а воздействие ацетилхолина замедляло скорость этих процессов.

С увеличением возраста в системе крови старых крыс происходило уменьшение влияния адреналина и ацетилхолина на изменения интенсивности процессов ПОЛ и АОА. Это можно связать с возрастзависимым уменьшением чувствительности рецепторов клеток к адреналину и ацетилхолину у старых крыс [5; 49; 149]. Рецепторов становится меньше, в белковых субъединицах

рецепторов с возрастом накапливаются ошибки, что приводит к ухудшению связи между нейромедиатором и рецептором и снижению качества передачи внутриклеточных сигналов другим посредникам [49; 97].

В миелокариocyтах старых крыс уменьшалось влияние парасимпатической нервной системы и увеличивалось влияние симпатической нервной системы на активацию процессов ПОЛ, что можно связать с возрастзависимым уменьшением количества холинорецепторов и дисфункцией адренорецепторов клеток. Адреналин в большей степени увеличивал интенсивность процессов ПОЛ в миелокариocyтах старых крыс, а ацетилхолин — в миелокариocyтах зрелых крыс, что могло быть одним из механизмов, приводящих к снижению пролиферативного потенциала костного мозга при старении (рис. 54).

ГЛАВА 6.

ВЛИЯНИЕ ДАЛАРГИНА НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ, АНТИОКИСЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И ЛИПИДНО-ЛИПОПРОТЕИНОВЫЙ СОСТАВ У ЗРЕЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕСС- ВОЗДЕЙСТВИИ

В последние годы широко изучаются опиоидные пептиды. В ряде работ доказана их способность активировать репарацию и регенерацию тканей, улучшать региональную микроциркуляцию и лимфоток, усиливать активность стресс-лимитирующих систем, оказывать иммуномодулирующий эффект [206; 282; 305; 306; 478; 487]. Выявлены многочисленные эффекты опиоидов на различные органы и системы. Указанные свойства присущи и синтетическому аналогу лей-энкефалина — даларгину, клиническая эффективность которого выявлена при лечении ряда заболеваний (синдром диабетической стопы, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки, хронический панкреатит, алкоголизм) [146].

Многочисленный ряд авторитетных ученых приписывают процессам свободнорадикального окисления (СРО) первостепенную роль в механизмах старения как организма в целом, так и клетки в отдельности [5; 73; 94; 124; 149; 345; 461]. Но в современной литературе недостаточно данных о влиянии даларгина на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности (АОА), особенно в возрастном аспекте. Однако, исходя из его химической структуры (тир-ала-гли-фен-лей-арг) и физиологических свойств, он должен обладать антиоксидантным эффектом. Одной из концевых аминокислот даларгина является аргинин, который играет существенную роль в регуляции процессов ПОЛ [137; 249; 311; 400] и в функционировании стволовых клеток [52]. Вполне возможно, что влияние даларгина связано с действием его аминокислотного остатка аргинина. Поэтому представляет интерес сравнить

действие даларгина и аргинина на предмет их влияния на систему ПОЛ и АОА, а также на пролиферативную активность клеток.

6.1. Влияние даларгина на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Внутримышечное введение даларгина старым и зрелым крысам не привело к достоверным изменениям уровня ПОЛ в периферической крови. У старых крыс проявилась только тенденция к увеличению коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) на 16,3% ($p>0,05$). В ходе иммобилизационного стресса даларгин у старых животных также вызвал увеличение уровня КПОЛ на 21% ($p>0,05$) по сравнению с нормой. Единственное достоверное положительное влияние даларгина было выявлено у зрелых крыс. Так, на фоне иммобилизационного стресса введение даларгина зрелым крысам привело к уменьшению КПОЛ в периферической крови на 22% $p<0,05$ по сравнению с контролем (таблица 47).

Введение даларгина группе зрелых крыс привело к антиоксидантному эффекту. На старых животных этот эффект не распространился, наблюдалась лишь недостоверная тенденция к росту ПОЛ в периферической крови. Уменьшение интенсивности ПОЛ произошло благодаря влиянию даларгина на антиокислительную

Таблица 47

Изменение коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ%) у старых и зрелых крыс в периферической крови при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	92±24	94±10(3)	108±22	130±12(2, 3)
Даларгин	107±14	114±18(1)	105±18	101±12(1, 2)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

систему крови. У старых крыс влияние даларгина на антиокислительную систему (АОС) было недостаточно сильным ввиду низкой дозы даларгина или из-за возрастного снижения реактивности регуляторных центров АОС. Таким образом, даларгин в периферической крови на фоне экстремального воздействия проявил себя как антиоксидант с выраженным возрастным различием.

Изучение антиокислительной активности в периферической крови подтвердило предположение о том, что введение даларгина приводит к активации АОС. Во всех группах крыс даларгин приводил к росту коэффициента атиокислительной активности (КАОА). Так, в периферической крови старых крыс даларгин достоверно увеличил КАОА на 21% ($p < 0,05$), у зрелых крыс рост активности составил 15% ($p > 0,05$) по сравнению с контролем. Применение даларгина на фоне иммобилизационного стресса у старых крыс также привело к достоверному увеличению в периферической крови величины КАОА на 24% ($p < 0,05$), у зрелых крыс КАОА недостоверно увеличился на 15% ($p > 0,05$) по сравнению с контролем (таблица 48). Достоверные значения роста КАОА в периферической крови свидетельствуют о выраженном стимулирующем действии даларгина на антиокислительную систему при иммобилизационном стресс-воздействии.

Активация антиокислительной активности в периферической крови происходила благодаря увеличению активности антиокислительных ферментов. Было определено, что в норме в периферической крови активность каталазы у старых крыс была меньше, чем

Таблица 48

Изменение коэффициента антиокислительной активности (КАОА%) у старых и зрелых крыс в периферической крови при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	96±10(1)	88±8(2)	97±6(4)	83±7(3,4)
Даларгин	116±5(1)	109±9(2)	111±13	102±8(3)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

у зрелых крыс, в среднем на 9% ($p>0,05$) (таблица 49). Коррекция даларгином привела к росту активности каталазы в крови во всех исследуемых группах крыс, но у старых крыс рост активности был меньше на 3% ($p>0,05$), чем у зрелых. Это связано с уменьшением с возрастом ответной реакции или реактивности ферментативной АОС (каталазы) периферической крови на внешние воздействия.

Таблица 49

Изменение активности каталазы (мккат/мл крови) в периферической крови у старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	5,03±0,52	5,15±0,99	5,47±0,99	5,63±0,71
Даларгин	6,62±1,73	6,24±2,47	6,91±1,21	6,38±1,61

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Из полученных материалов можно сделать вывод, что даларгин проявил себя как функциональный антиоксидант, приводящий к увеличению активности АОС в периферической крови старых и зрелых крыс. Даларгин оказывал антиоксидантное действие не за счет снижения генерации активных форм кислорода, а за счет активации ферментативной антиоксидантной защиты тканей. У старых животных реактивность АОС крови на введение даларгина в норме и на фоне стресса была несколько ниже, чем у зрелых крыс.

6.2. Влияние даларгина на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в костном мозге зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

При внутримышечном введении даларгина старым и зрелым крысам в миелокариоцитах костного мозга происходило увеличение коэффициента антиокислительной активности (КАОА)

на 8% ($p>0,05$) (таблица 50). В ходе эксперимента с иммобилизационным стрессом введение даларгина животным также приводило к закономерному увеличению КАОА в миелокариocyтах: у старых крыс КАОА увеличился на 60% ($p<0,05$), у зрелых крыс увеличился на 31% ($p>0,05$) (таблица 50). Следует отдельно отметить, что уровень КАОА в миелокариocyтах у старых и зрелых крыс после введения даларгина на фоне стресс-воздействия не только вернулся к норме, но и превысил ее значения в среднем на 10% ($p>0,05$).

Таблица 50

Изменение коэффициента антиокислительной активности (КАОА%) у старых и зрелых крыс в миелокариocyтах костного мозга при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	91±9(1)	63±9(1,2)	89±14	74±12
Даларгин	93±12	101±26(1,2)	102±7	97±13

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Выявленное увеличение КАОА в миелокариocyтах крыс произошло за счет активации даларгином ферментативной АОА, участие даларгина в работе неферментативной компоненты АОА костного мозга не обнаружено. При изучении изменения каталазы в миелокариocyтах старых и зрелых крыс были получены данные о росте активности каталазы при воздействии даларгином, как до иммобилизационного воздействия, так и на фоне воздействия иммобилизации (таблица 51). У зрелых крыс рост активности каталазы был заметно выше, чем у старых крыс, даларгин в костном мозге проявил себя как активатор ферментативной активности каталазы со свойствами функционального антиоксиданта.

Изменения неферментативной АОА при воздействии даларгином происходили в обратном направлении по сравнению с изменениями активности каталазы. Введение даларгина уменьшало величину

неферментативной АОА у крыс обеих возрастных групп как до, так и после иммобилизационного стресс-воздействия (таблица 52).

В группах старых и зрелых крыс уменьшение АОА на фоне воздействия даларгином составило 15–19% ($p>0,05$). При иммобилизационном стресс-воздействии даларгин также уменьшал неферментативную АОА: у старых крыс на 40% ($p<0,05$), у зрелых крыс на 16% ($p>0,05$). То есть в данном случае даларгин не проявил себя как структурный антиоксидант, способный связывать активные формы кислорода, напротив, при его воздействии произошло уменьшение неферментативной АОА, особенно у старых крыс. Вероятно, это происходило за счет гомеостатического равновесия между фер-

Таблица 51

Изменение активности каталазы (мккат/мл) в миелокариоцитах у старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	4,05±1,46(1)	3,10±0,71(2)	2,17±0,25(1)	1,96±0,54(2,3)
Даларгин	3,91±0,82	3,23±1,56	2,71±0,60	3,38±0,94(2,3)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Таблица 52

Изменение неферментативной антиокислительной активности (ОАА%/мг белка) в миелокариоцитах старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	20±2(1)	25±2(1,2,3)	21±5	19±2(3)
Даларгин	17±3	15±6(1,2)	17±2	16±4

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

ментативной и неферментативной АОА: при увеличении активности одной системы активность другой уменьшалась.

Таким образом, даларгин в миелокариocyтах костного мозга как до, так и после иммобилизационного стресс-воздействия проявлял себя как функциональный антиоксидант, обладающий способностью к активации ферментативной АОА. Даларгин в миелокариocyтах животных показал возрастные различия в активации каталазы: у зрелых крыс рост активности каталазы был более значимым, чем у старых.

Внутримышечное введение даларгина зрелым и старым крысам приводило к инактивации процессов ПОЛ в миелокариocyтах, уровень КПОЛ проявил тенденцию к уменьшению на 6% ($p>0,05$) (таблица 53).

Воздействие иммобилизационного стресса на животных, как и следовало ожидать, приводило к росту уровня ПОЛ, вызывающего повреждение клеток: величина КПОЛ и миелокариocyтаз зрелых и старых крыс увеличился на 20% ($p>0,05$). Одна из причин такого увеличения КПОЛ — это влияние катехоламинов (адреналина), продукция которого возрастает в ходе любого экстремального воздействия, в том числе и в ходе иммобилизационного стресс-воздействия.

В ходе коррекции даларгином проявлений иммобилизационного стресс-воздействия в миелокариocyтах зрелых крыс происходило уменьшение величины КПОЛ на 36% ($p<0,05$); это произошло отчасти потому, что активность каталазы при этих условиях

Таблица 53

Изменение коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ%) в миелокариocyтах костного мозга у старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	98±21	109±13(1)	100±8(2)	143±14(1,2,3)
Даларгин	95±9	119±18	91±14	91±21(3)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

значительно возросла (таблица 51). У группы старых животных коррекция стресс-реакции даларгином не привела к уменьшению КПОЛ в миелокариocyтах костного мозга.

Даларгин оказал особенно сильное влияние на ПОЛ в костномозговом клеточном микроокружении (супернатант костного мозга). В ходе изучения супернатанта костномозговой ткани старых и зрелых крыс были получены данные о положительном влиянии даларгина на инактивацию интенсивности ПОЛ. Так, после введения даларгина зрелым и старым крысам в супернатанте костного мозга было выявлено снижение величины КПОЛ: у старых крыс уменьшение КПОЛ составило 8% ($p>0,05$), у зрелых крыс уменьшение КПОЛ составило 31% ($p<0,05$). Эти данные говорят о выраженном антиоксидантном эффекте даларгина, уменьшающего интенсивность процессов ПОЛ в клеточном окружении и клетках костного мозга. Также видны возрастные различия от воздействия даларгина, который достоверно уменьшал ПОЛ у группы зрелого возраста. Корректирующее влияние даларгина на ПОЛ у крыс старого возраста было несущественно (таблица 54).

При изучении корректирующего воздействия даларгина на состояние процессов ПОЛ и АOA в клеточном окружении костного мозга при иммобилизационном стресс-воздействии также обнаружились положительные изменения в динамике ПОЛ. В данном случае в клеточном окружении миелокариocyтов старых и зрелых крыс даларгин проявлял себя как антиоксидант. В ходе коррекции даларгином иммобилизации у зрелых крыс величина КПОЛ в клеточном микроокружении костного мозга уменьшилась на 30% ($p<0,05$), у старых крыс уменьшение было незначительно — на 5% ($p>0,05$). Таким образом, в межклеточной среде красного костного мозга даларгин так же проявил свои антиоксидантные свойства: как до иммобилизационного стресс-воздействия, так и после, особенно в группе зрелых крыс (таблица 54).

Полученные данные о понижении уровня ПОЛ при введении даларгина, с одной стороны, можно объяснить активацией каталазы, а с другой стороны — изменением в работе фермента фосфолипазы A2 (ФЛА2), который является поставщиком субстратов для процессов ПОЛ. При изучении влияния даларгина на актив-

ность ФЛА2 в миелокариocyтах костного мозга старых и зрелых крыс обнаружено уменьшение активности этого фермента в среднем на 25% ($p>0,05$) (таблица 55).

Даларгин уменьшал интенсивность процессов ПОЛ в миелокариocyтах костного мозга, благодаря снижению активности фермента ФЛА2. В группах животных со стресс-воздействием наблюдалась обратная ситуация — введение даларгина приводило к росту в миелокариocyтах активности ФЛА2: у старых крыс активность ФЛА2 увеличилась на 42% ($p<0,05$), у зрелых увеличилась незначительно. Полученное увеличение активности ФЛА2 на фоне стресса в конечном итоге не привело к увеличению ПОЛ, возможно, увеличение

Таблица 54

Изменение коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ%) в клеточном микроокружении костного мозга (супернатант костного мозга) у старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	93±21	121±17	92±15(1,2)	142±22(2,3)
Даларгин	86±19	115±21	63±13(1)	99±18(3)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Таблица 55

Изменение активности фермента фосфолипаза А2 (ФЛА2, нкат/мг белка) в костном мозге у старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	1,78±0,44	1,56±0,28(1)	1,50±0,77	1,34±0,30
Даларгин	1,40±0,07(2)	2,22±0,04(1,2,3)	1,07±0,20	1,36±0,58(2)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

интенсивности процессов ПОЛ замедлилось вследствие активации даларгином ферментативной составляющей АОА.

Отдельный интерес представляет вопрос по изучению влияния даларгина на пролиферативную активность в клетках костного мозга старых и зрелых крыс в норме и на фоне экстремального воздействия. Введение даларгина зрелым и старым крысам привело к увеличению количества ретикулоцитов в крови. У старых крыс количество ретикулоцитов увеличилось на 35% ($p>0,05$), у зрелых крыс увеличение произошло незначительно — на 3% ($p>0,05$) по сравнению с контролем. Введение даларгина на фоне иммобилизационного стресс-воздействия также привело к увеличению количества ретикулоцитов в крови: у старых крыс их количество увеличилось на 14% ($p>0,05$), у зрелых крыс увеличилось на 18% ($p<0,05$) (таблица 56).

Таблица 56

**Изменение количества ретикулоцитов (на тыс. эритроцитов)
в крови у старых и зрелых крыс при иммобилизационном
стресс-воздействии и введении даларгина**

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	14,6±2,3(1)	17,8±2,8(1)	20,6±2,7	19,1±0,9(2)
Даларгин	19,8±4,8	20,2±1,7	21,3±3,5	22,5±1,7(2)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Таким образом, исходя из данных по ретикулоцитам, можно заключить, что даларгин проявлял свойства активатора пролиферации в костном мозге. По нашему мнению, одной из причин таких свойств даларгина может служить наличие в даларгине концевой аминокислоты аргинина, которая, по последним научным данным, обладает подобными свойствами [52; 120; 137; 146; 400; 430; 506].

В заключение можно обобщить, что даларгин в экспериментах на миеокариocyтах костного мозга старых и зрелых крыс, как в норме, так и при экстремальном воздействии, проявлял себя как

функциональный антиоксидант и стресс-протектор, уменьшая негативные изменения в системе антиокислительной защиты. Даларгин активировал энзимную составляющую АОА, особенно значимо эта активация происходила в костном мозге зрелых крыс. Кроме того, введение даларгина крысам, как в норме, так и при стрессе, приводило к инаktivации процессов ПОЛ в межклеточной среде и клетках костного мозга. Уменьшение ПОЛ происходило как за счет повышения активности каталазы, так и за счет уменьшения активности ФЛА2, и особенно в группе зрелых крыс.

Также следует дополнительно отметить, что даларгин в костном мозге кроме антиоксидантных свойств показал свойства активатора пролиферативной активности, что связано с наличием в даларгине аминокислоты аргинин.

6.3 Влияние даларгина на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в головном мозге зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Введение даларгина старым и зрелым крысам приводило к уменьшению величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) в головном мозге на 24% ($p > 0,05$). Влияние даларгина на фоне иммобилизационного стресс-воздействия также приводило к уменьшению величины КПОЛ: у старых крыс уровень КПОЛ в головном мозге уменьшился на 10% ($p > 0,05$), у зрелых крыс — на 17% ($p > 0,05$) (таблица 57).

Изучение изменения активности фосфолипазы А2 (ФЛА2) в головном мозге старых и зрелых крыс на фоне воздействия даларгином частично объясняет причины снижения интенсивности процессов ПОЛ как до, так и после иммобилизационного стресс-воздействия. Были получены данные, демонстрирующие снижение активности ФЛА2 под влиянием даларгина у старых и зрелых крыс, и особенно на фоне иммобилизационного стресс-воздействия. ФЛА2 продуцирует свободные жирные кислоты, которые являются основным субстратом процессов ПОЛ, и поэтому ее активация должна закономерно способствовать увеличению перекисной

деградации липидов. У старых крыс в головном мозге на фоне иммобилизации активность ФЛА2 уменьшилась на 25% ($p>0,05$), у зрелых крыс активность ФЛА2 уменьшилась на 48% ($p>0,05$) (таблица 58). Таким образом, снижение активности ФЛА2 является одной из возможных причин, инактивирующих распространение процессов ПОЛ в головном мозге.

Следует констатировать, что в головном мозге даларгин проявил тенденцию к снижению уровня ПОЛ, но необходимо отметить, что достоверных изменений обнаружено не было. В связи с этим можно сделать вывод, что влияние даларгина на головной мозг не столь выражено и однозначно, как на кровь и костный мозг, рассмотренные в предыдущих подразделах (разделы 6.1, 6.2). Возможно,

Таблица 57

Изменение коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ%) в головном мозге у старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	105±34(1)	118±22	105±14	103±25
Даларгин	65±8(1,2)	107±15(2,3)	95±23	75±17(3)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Таблица 58

Изменение активности фермента фосфолипаза А2 (ФЛА2, нкат/мг белка) в головном мозге у старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	0,37±0,27(1)	0,81±0,14(1,3)	0,54±0,08	0,50±0,15(3)
Даларгин	0,33±0,07(2)	0,61±0,25	0,67±0,05(2,4)	0,26±0,14(4)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

антиоксидантное влияние даларгина на головной мозг происходит не напрямую, а опосредованно, через другие системы организма (система крови, печень). Возрастных различий во влиянии даларгина на ПОЛ в головном мозге обнаружено не было.

При изучении общей антиокислительной активности в головном мозге у старых и зрелых крыс обнаружались возрастные различия в действии даларгина. У старых крыс в головном мозге даларгин вызывал рост неферментативной составляющей антиокислительной активности (АОА) на 50% ($p>0,05$). У зрелых крыс в головном мозге обнаружена обратная ситуация: введение даларгина как до иммобилизационного стресс-воздействия, так и после него приводило к уменьшению неферментативной АОА, в среднем, на 31% ($p>0,05$) (таблица 59). Таким образом, воздействие даларгина привело к возрастным различиям в изменениях неферментативной компоненты АОА в головном мозге: у старых животных проявилась тенденция к антиоксидантному эффекту, у зрелых животных — тенденция к прооксидантному эффекту.

При изучении влияния даларгина на КАОА у старых и зрелых крыс полученные данные были разрознены и недостоверны, поэтому мы пришли к выводу, что даларгин не оказывает на АОА головного мозга крыс существенного влияния.

В заключение следует отметить, что даларгин в головном мозге старых и зрелых крыс не оказывал существенного влияния на процессы ПОЛ и АОА как до иммобилизационного стресс-воздействия,

Таблица 59

**Изменение общей антиокислительной активности
(ОАА%/мг белка) в головном мозге старых и зрелых крыс
при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина**

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	3,17±1,20(1)	3,48±1,08(2)	5,96±0,98(1,3)	6,26±1,37(2,4)
Даларгин	3,93±2,10	6,16±2,15	4,82±1,49	3,52±0,72(3,4)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

так и после. Можно констатировать, что при воздействии даларгина наблюдалась лишь тенденция к его антиокислительному действию. Вероятно, выявленные тенденции по изменению активности процессов ПОЛ и АОА в головном мозге зрелых и старых крыс происходят в результате влияния системы крови, в которой происходят аналогичные изменения (раздел 6.1).

6.4. Влияние даларгина на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в печени зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

По единодушному мнению многих медиков и биологов, печень является главной биохимической фабрикой организма, в которой происходит превращение и синтез большинства веществ. Поэтому введение даларгина в организм должно напрямую или опосредованно оказывать влияние на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительную активность (АОА) в печени у старых и зрелых крыс в норме и при иммобилизационном стресс-воздействии.

Введение даларгина зрелым крысам приводило к уменьшению величины КПОЛ в печени на 38% ($p < 0,05$). У старых крыс введение даларгина показывало только тенденцию к снижению КПОЛ в печени. Возможно, это снижение пришлось на начало процесса взятия организмом под контроль процессов ПОЛ, в среднем уровень КПОЛ в печени старых крыс понизился на 8% ($p > 0,05$) (таблица 60).

Таким образом, исходя из полученных данных по уменьшению КПОЛ в печени старых и зрелых крыс (таблица 60), можно сделать вывод, что даларгин проявлял свойства антиоксиданта.

При изучении влияния даларгина на АОА в печени обнаружили возрастные различия между старыми и зрелыми крысами. У старых крыс в печени при введении даларгина произошло возрастание величины КАОА на 91% ($p < 0,05$). В печени зрелых крыс наблюдалась обратная ситуация: при введении даларгина как до иммобилизационного стресс-воздействия, так и после, на фоне понижения ПОЛ (таблица 60) наблюдалось уменьшение КАОА, его величина снизилась на 20% ($p > 0,05$) по сравнению с контролем (таблица 61).

Вероятно, обнаруженное уменьшение АОА в печени зрелых крыс на фоне стресса связано с тем, что в данном случае были зафиксированы уже последствия от активации АОА. То есть у зрелых крыс в печени на фоне стресса даларгин вызвал активацию АОС, которая в результате своей работы понизила интенсивность ПОЛ и затем сама пришла в норму, от чего и наблюдалось уменьшение величины КАОА.

Исследование по влиянию даларгина на изменение активности каталазы показало, что ее активность у старых животных в печени достоверно повысилась на 150% ($p < 0,05$), а у зрелых крыс уровень каталазы существенно не изменился (таблица 62). То есть к тому

Таблица 60

Изменение коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ%) в печени старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	104±21	114±23	106±25(3)	112±30(4)
Даларгин	114±7(1)	84±15	76±4(1,2)	58±10(2,3,4)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

Таблица 61

Изменение коэффициента антиокислительной активности (КАОА%) в печени старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	63±22(1,2,3)	72±16(4,5)	121±25(1)	147±42(5)
Даларгин	128±20(2)	131±24(3,4)	113±29	100±37

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

Изменение активности каталазы (мккат/мл) в печени у старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	3,65±1,72(1,2)	5,16±1,47(3)	8,69±3,00	8,90±3,60
Даларгин	9,67±2,08(1)	11,69±1,8(2,3)	7,45±3,07	6,47±3,84

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

времени как активность каталазы в печени старых крыс под воздействием даларгина достигла максимума, у зрелых крыс каталаза отработала, и ее активность вернулась к норме. Возможно, такая быстрая активация каталазы может быть связана с миграцией фермента из эритроцитов в кровь и обратно. Даларгин оказывал на АОА печени зрелых крыс более сильное влияние, чем на печень старых крыс.

В заключение можно отметить, что даларгин оказывал на печень старых и зрелых крыс антиоксидантные свойства. На фоне экстремального иммобилизационного стресс-воздействия даларгин приводил к активации ферментативной составляющей АОА. Особенно сильное влияние даларгин оказал на группу зрелых крыс, достоверно на 40% понижая уровень ПОЛ. Даларгин в печени старых и особенно зрелых крыс проявил свойства функционального антиоксиданта. При возрастном сравнении даларгин оказывал большее влияние на печень зрелых крыс.

6.5. Влияние даларгина на изменение липидного и липопротеинового состава крови у зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Как было показано в предыдущих разделах, введение даларгина старым и зрелым крысам оказывает антиоксидантный эффект, приводящий к уменьшению перекисного окисления липидов (ПОЛ) в орга-

низме. Поэтому имеет смысл предположить, что даларгин может влиять не только на интенсивность процессов ПОЛ, но и на липидную составляющую крови как потенциального субстрата для реакций ПОЛ.

Введение даларгина старым и зрелым крысам не приводило к заметному изменению количества общих липидов (ОЛ) в сыворотке крови (таблица 63). Только в группе зрелых крыс до иммо-

Таблица 63

Изменение количества общих липидов (г/л) в сыворотке крови старых и зрелых крыс при иммобилизационном стрессе-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	4,23±0,90(1)	4,36±0,80	5,02±0,26(1,2)	4,12±0,53
Даларгин	4,22±0,31	4,40±0,46	4,08±0,06(2)	4,37±0,32

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

билизационного стресс-воздействия наблюдалась тенденция к снижению количества ОЛ, уменьшение составило 18% ($p < 0,05$).

Таким образом, даларгин по отношению к изменению содержания ОЛ в крови проявлял себя нейтрально: у животных до иммобилизационного стресс-воздействия понижал уровень ОЛ, а после стресс-воздействия никаких существенных изменений под влиянием даларгина не наблюдалось. У зрелых крыс влияние даларгина на ОЛ было более значимо, чем у старых.

При изучении влияния даларгина на количество триглицеридов (ТГ) сыворотки крови были получены данные, показывающие возрастные различия между старыми и зрелыми крысами как до, так и после иммобилизационного стресс-воздействия. Введение даларгина старым животным привело к понижению количества ТГ на 6% ($p > 0,05$). У зрелых крыс обратная ситуация: введение даларгина привело к увеличению количества ТГ на 40% ($p > 0,05$) по сравнению с контролем. Изменение количества ТГ в сыворотке крови

зрелых и старых крыс, возможно, связано с влиянием даларгина на активность ферментов, задействованных в синтезе липопротеинов, что и приводит в одном случае к увеличению триглицеридов, а в другом — к уменьшению (таблица 64).

Изучение изменения количества фосфолипидов (ФЛ) в сыворотке крови показало, что даларгин не оказывает существенного влияния на их количество. Тенденция к изменению количества ФЛ при введении даларгина обнаружена только в группах животных до иммобилизационного стресс-воздействия: у старых крыс в сыворотке крови уровень ФЛ при этих условиях уменьшился на 7% ($p>0,05$), у зрелых крыс увеличился на 3% ($p>0,05$) по сравнению с контролем (таблица 65).

Таблица 64

Изменение количества триглицеридов (ммоль/л) в сыворотке крови старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	2,27±0,20(1)	2,05±0,64	1,34±0,12(1,2)	1,89±0,19
Даларгин	2,10±0,14	1,97±0,30	2,26±0,54(2)	2,12±0,09

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Таблица 65

Изменение количества фосфолипидов (ммоль/л) в сыворотке крови старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	7,43±0,34	8,05±0,59	7,20±0,53	7,18±0,41
Даларгин	6,92±0,92	8,00±1,02	7,42±0,32	7,19±0,17

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Исследование по влиянию даларгина на количество общего холестерина (ОХ) в сыворотке крови показало наличие различий в его изменениях между старыми и зрелыми крысами. При введении даларгина в сыворотке крови старых крыс было обнаружено уменьшение количества ОХ до иммобилизационного стресс-воздействия на 31% ($p < 0,05$); после иммобилизационного стресс-воздействия уменьшение составило 21% ($p > 0,05$) по сравнению с контролем (таблица 66).

Таблица 66

Изменение количества общего холестерина (ммоль/л) в сыворотке крови старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	1,89±0,18(1)	2,06±0,07(2)	1,89±0,05	1,89±0,24
Даларгин	1,30±0,09(1,3)	1,62±0,12(2)	2,08±0,05(3)	1,66±0,21

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

В группе зрелых крыс изменения количества ОХ, вызванные даларгином, не столь однозначны, как в группе старых крыс: в сыворотке крови зрелых крыс до иммобилизационного стресс-воздействия при введении даларгина произошло увеличение ОХ на 10% ($p < 0,05$); после иммобилизационного стресс-воздействия даларгин, напротив, приводил к уменьшению ОХ на 12% ($p > 0,05$) по сравнению с контролем.

Таким образом, можно заключить, что даларгин благоприятно влиял на содержание ОХ в сыворотке крови старых крыс, уменьшая его содержание, как до иммобилизационного стресс-воздействия, так и после. С другой стороны, в группе зрелых крыс даларгин не показывал однозначного влияния на изменения количества холестерина в сыворотке крови. В связи с этим есть предположение о том, что даларгин не влияет на динамику общего холестерина, и для более точного вывода необходимо рассмотреть вопрос о влиянии

даларгина на изменения количества липопротеиновых фракций в сыворотке крови.

При изучении количества липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) в сыворотке крови старых и зрелых крыс были получены данные, показывающие достоверные возрастные различия в изменении их количества. В сыворотке крови старых крыс на фоне воздействия даларгина количество ЛПОНП имело тенденцию к понижению: уровень ЛПОНП уменьшился на 7% ($p>0,05$), у зрелых крыс прием даларгина привел к увеличению ЛПОНП на 33% ($p>0,05$) по сравнению с контролем (таблица 67). Полученные данные по ЛПОНП хорошо согласуются с данными по количеству ТГ, где под влиянием даларгина у зрелых крыс также наблюдалось увеличение их количества, а у старых — тенденция к уменьшению (таблица 64).

Таблица 67

Изменение количества липопротеинов очень низкой плотности (ммоль/л) в сыворотке крови старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	0,45±0,05(1)	0,41±0,13	0,27±0,03(1,2)	0,37±0,04
Даларгин	0,41±0,02	0,39±0,06	0,42±0,09(2)	0,41±0,01

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$)

Таким образом, введение даларгина приводило к увеличению образования в сыворотке крови зрелых крыс ЛПОНП как до, так и после иммобилизационного стресс-воздействия. Увеличение количества ЛПОНП, возможно, связано с аналогичными изменениями количества триглицеридов. У крыс старого возраста наблюдалась только тенденция к уменьшению количества ЛПОНП.

Количество липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в крови старых и зрелых крыс изменялось разнонаправленно, в зависимости от возраста. У старых животных введение даларгина до и после иммобилизационного стресс-воздействия приводило к однознач-

ному уменьшению содержания в сыворотке крови ЛПНП: их количество уменьшилось на 21% ($p>0,05$). У зрелых крыс изменения в количестве ЛПНП происходили синхронно, с изменениями общего холестерина сыворотки крови (таблица 66), то есть до иммобилизационного стресс-воздействия наблюдалось увеличение ЛПНП на 26% ($p>0,05$), при иммобилизации — уменьшение на 5% ($p>0,05$) (таблица 68) по сравнению с контролем. Другими словами, одно-значного и объяснимого влияния даларгина на количество ЛПНП в крови зрелых крыс не обнаружено.

Таблица 68

Изменение количества липопротеинов низкой плотности (ммоль/л) в сыворотке крови старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	0,92±0,10(1)	1,33±0,08(1,2,3)	0,77±0,10	0,83±0,11(3)
Даларгин	0,88±0,10	0,83±0,20(2)	0,97±0,15	0,79±0,14

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Таким образом, введение даларгина старым крысам приводило к нормализации и уменьшению в сыворотке крови количества ЛПНП как до иммобилизационного стресс-воздействия, так и после. У зрелых крыс изменения в количестве ЛПНП были разнонаправленными и неоднозначными, поэтому, вероятно, даларгин не влияет на количество ЛПНП в сыворотке крови зрелой возрастной группы. Все изменения количества ЛПНП находились в прямой зависимости от количества ОХ в сыворотке крови (таблицы 66, 68). Следует отметить, что даларгин у старых и зрелых крыс имел тенденцию к сдерживанию увеличения количества ЛПНП, вызванного иммобилизационным стрессом.

Изменение количества липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) в сыворотке крови старых и зрелых крыс после введения даларгина были разнонаправленными и зависели от возраста.

В сыворотке крови зрелых крыс до и после иммобилизационного стресс-воздействия введение даларгина приводило к увеличению количества ЛПВП на 13% ($p>0,05$) (таблица 69). Если учесть, что увеличение количества ЛПВП происходило на фоне увеличения количества ЛПОНП (таблица 67), то можно утверждать, что это изменение является благоприятным фактором для зрелых животных. У старых крыс до и после иммобилизационного стресс-воздействия введение даларгина приводило к уменьшению количества ЛПВП, и это уменьшение в совокупности составило 9% ($p>0,05$) по сравнению с контролем.

Таблица 69

Изменение количества липопротеинов высокой плотности (ммоль/л) в сыворотке крови старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	0,83±0,11	0,67±0,09	0,85±0,03(2)	0,85±0,15
Даларгин	0,71±0,10(1)	0,64±0,17	0,94±0,04(1,2)	0,98±0,27

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Таким образом, введение даларгина увеличивало количество ЛПВП сыворотки крови у зрелых крыс и приводило к уменьшению их количества у старых животных.

Липопротеиновый коэффициент (ЛК) крыс является аналогом коэффициента атерогенности человека и суммарным показателем, включающим в себя все данные по липопротеиновой фракции. Поэтому его изучение будет являться наиболее информативным для анализа влияния даларгина на состояние липопротеиновой составляющей сыворотки крови у старых и зрелых крыс в контроле и при иммобилизационном стрессе.

Липопротеиновый коэффициент (ЛК) рассчитывали по формуле:

$$\text{ЛК} = (\text{ЛПОНП} + \text{ЛПНП}) / \text{ЛПВП}.$$

При изучении влияния даларгина на величину ЛК в группах старых и зрелых крыс до иммобилизационного стресс-воздействия проявилась тенденция к увеличению ЛК, но причины этого увеличения различны. У старых контрольных крыс введение даларгина привело к увеличению значения ЛК на 10% ($p>0,05$) (таблица 70), что связано с уменьшением количества ЛПВП (таблица 69), которые, в свою очередь, уменьшились в связи с уменьшением количества ФЛ и ОХ (таблицы 65, 66). В сыворотке крови зрелых крыс введение даларгина также приводило к увеличению величины ЛК на 21% ($p>0,05$), но причина этого роста заключается в увеличении количества ЛПНП и ЛПОНП (таблицы 67, 68), количество которых возросло в связи с ростом уровня ТГ (таблица 64).

Таблица 70

**Изменение количества липопротеинового коэффициента
в сыворотке крови старых и зрелых крыс при
иммобилизационном стрессе и введении даларгина**

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	1,65±0,34	2,59±0,09(1,2)	1,22±0,20	1,41±0,15(2)
Даларгин	1,81±0,20	1,90±0,17(1)	1,48±0,22	1,22±0,16

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Таким образом, увеличение ЛК в сыворотке крови при введении даларгина у старых крыс связано с уменьшением количества ФЛ и ОХ, а у зрелых крыс — с увеличением количества ТГ.

Введение даларгина старым и зрелым крысам после иммобилизационного стресс-воздействия приводило к уменьшению и нормализации величины ЛК в сыворотке крови. У старых крыс даларгин после иммобилизационного стресс-воздействия уменьшал величину ЛК на 27% ($p<0,05$) по сравнению с контролем. Вероятно, выявленное уменьшение величины ЛК произошло в результате понижения количества ЛПНП (таблица 68) в сыворотке крови старых крыс. В сыворотке крови зрелых крыс введение даларгина после

иммобилизационного стресс-воздействия уменьшало величину ЛК на 13% ($p > 0,05$). Данное изменение, возможно, связано с ростом количества ЛПВП (таблица 69). Таким образом, при экстремальном иммобилизационном стресс-воздействии даларгин оказывал антиатерогенный эффект на животных, уменьшая величину ЛК в сыворотке крови старых крыс и приводя его к норме у зрелых крыс.

В заключение можно отметить, что даларгин не оказывал существенного влияния на изменения в липидных фракциях сыворотки крови старых и зрелых крыс. Даларгин понижал уровень общего холестерина у старых крыс и увеличивал количество ТГ у зрелых крыс. Дополнительно следует отметить, что даларгин у старых и зрелых крыс имел тенденцию к сдерживанию увеличения количества ТГ и ОХ, вызванного иммобилизационным стресс-воздействием. Найденные у старых и зрелых крыс изменения в липидных фракциях сыворотки крови связаны с изменениями в образовании липопротеиновых компонентов.

При изучении влияния даларгина на липопротеиновый спектр сыворотки крови старых и зрелых крыс было выявлено его антиатерогенное действие. У старых крыс под влиянием даларгина после иммобилизационного стресс-воздействия произошло уменьшение липопротеинового коэффициента, вызванное понижением количества ЛПНП. У зрелых крыс даларгин после иммобилизационного стресс-воздействия также уменьшал величину липопротеинового коэффициента, приводя его к уровню нормы. Это произошло в результате увеличения количества ЛПВП при тех же условиях.

6.6. Влияние даларгина на психоэмоциональное состояние зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Даларгин оказывал положительное влияние на изменения ПОЛ и АОА у крыс, как в норме, так и при стрессе. Поэтому представляет интерес рассмотрение вопроса о влиянии даларгина на изменения в поведении и двигательной активности, или, другими словами, изменения в психоэмоциональном состоянии старых и зрелых крыс. В исследовании на поведение использовался классический прием по изучению двигательной активности — тест «открытое поле».

Согласно полученным данным даларгин оказывал благоприятный эффект на психоэмоциональный статус старых животных как до, так и после иммобилизационного стресс-воздействия (таблица 71). При сравнении изменений двигательной активности между контрольными и опытными группами старых крыс выяснилось, что двигательная активность после инъекции даларгина увеличилась на 160% ($p<0,05$). Следует отметить, что выявленное положительное влияние даларгина на поведение старых крыс можно связать с увеличением активности неферментативной компоненты АОА (таблица 59) и с уменьшением активности фосфолипазы А2 (таблица 58) в головном мозге при аналогичных условиях. Инъекция даларгина зрелым крысам до иммобилизационного стресс-воздействия не приводила к значимому и достоверному изменению двигательной активности (таблица 71).

Таблица 71

Изменение коэффициента суммарной двигательной активности у старых и зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении даларгина

<i>Возраст крыс</i>	<i>Норма</i>	<i>1 сутки после укола</i>	<i>2 сутки после укола</i>	<i>3 сутки после укола</i>	<i>12 часов после иммобилизации</i>
Зрелые (контроль)	24,5±2,9	11,3±2,7	7,8±2,3	4,8±1,2	10,5±3,6
Старые (контроль)	19,3±1,7*	8,5±3,0	4,8±0,4 *	4,6±1,2	4,5±0,7 *
Зрелые (даларгин)	21,7±1,6	9,5±2,3	11,7±4,8	4,5±1,9	3,7±1,2**
Старые (даларгин)	29,0±4,2* **	18,5±4,0* **	16,0±4,4**	10,2±3,4* **	12,5±2,8* **

Примечание: * — $p<0,05$ при сравнении старых и зрелых крыс;

** — $p<0,05$ при сравнении с контрольной группой (одного возраста).

Таким образом, введение даларгина старым крысам продемонстрировало его антистрессорные и антидепрессивные свойства, сопряженные с ростом активности общей неферментативной АОА в центральной нервной системе. У зрелых крыс влияния даларгина на поведение и двигательную активность не обнаружено.

ГЛАВА 7.

ВЛИЯНИЕ КОМБИНАЦИИ L-ТРИПТОФАНА И НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ, АНТИОКИСЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И ЛИПИДНО-ЛИПОПРОТЕИНОВЫЙ СОСТАВ У ЗРЕЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕСС-ВОЗДЕЙСТВИИ

Незаменимая аминокислота L-триптофан (Trp) относится к группе индольных производных, и благодаря этому она обладает антиоксидантными свойствами [157; 204]. Кроме того, сами производные Trp, такие как 5-гидрокси-L-триптофан и мелатонин, широко известны и относятся к сильным антиоксидантам, превышающим по своей активности аскорбиновую кислоту и витамин Е [7; 34]. Известно, что никотиновая кислота (Н.к.) активно участвует в метаболизме Trp [317; 474; 501] и должна усиливать антиоксидантный эффект Trp (глава 1, рисунок 3). Также в литературе нет данных о возрастных различиях в антиоксидантных свойствах L-триптофана в комбинации с никотиновой кислотой (Trp+Н.к.). Поэтому изучение влияния Trp+Н.к. на ПОЛ и АОА у зрелых и старых крыс в нормальном состоянии и на фоне иммобилизационного стресс-воздействия актуально.

Метаболические производные Trp по серотониновому пути обладают психотропными (антидепрессивными и снотворными) свойствами [277; 346; 347]. Наряду с этим известно, что психо-депрессивные состояния приводят к изменениям в системе ПОЛ/АОА и могут способствовать развитию атеросклероза, одного из основных возрастных заболеваний человека [109; 59]. Поэтому существует необходимость исследовать вопрос об антиоксидантном, гиполипидемическом и антидепрессивном действии Trp и Н.к. у крыс разного возраста в норме и при экстремальном, ускоряющем старение воздействии.

7.1. Влияние комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

У интактных крыс с увеличением возраста уровень коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в крови не изменялся. Воздействие иммобилизации как стресс-фактора приводило к уменьшению КАОА в периферической крови зрелых и старых крыс. У старых крыс КАОА при иммобилизации в периферической крови уменьшался на 8% ($p>0,05$), у зрелых крыс — на 14% ($p<0,05$) (таблица 72) по сравнению с интактными крысами. Эти данные коррелируют с материалами, описанными в третьей главе монографии (рис. 14, таблица 2), где показано, что к 12 часу после иммобилизационного стресс-воздействия в начале стадии резистентности также наблюдалось уменьшение величины КАОА. Уменьшение КАОА связано со снижением в ходе стресс-реакции количества неферментативных антиоксидантов и началом активации ферментативной составляющей антиокислительной системы (АОС).

Введение комбинации Тгр+Н.к. зрелым и старым крысам приводило к закономерному увеличению в периферической крови значений

Таблица 72

Изменение величины коэффициента антиокислительной активности (КАОА%) в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	96±10	88±8	97±6(1)	83±7(1, 2)
Тгр+Н.к.	99±11	103±11	116±16	104±3(2)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

КАОА: у старых крыс КАОА увеличился на 3% ($p>0,05$), у зрелых крыс — на 19% ($p>0,05$) по сравнению с контролем.

Введение Тгр+Н.к. животным на фоне иммобилизационного стресс-воздействия приводило к значительному увеличению АОА в периферической крови. У старых крыс воздействие Тгр+Н.к. и последующая за этим иммобилизация вызвали увеличение КАОА в сыворотке крови на 17% ($p>0,05$), у зрелых крыс — на 25% ($p<0,05$). L-триптофан и его производные являются неферментативными антиоксидантами, и поэтому введение L-триптофана крысам может создать дополнительный резерв в неферментативной АОС.

Исследование перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови интактных старых и зрелых крыс показало наличие лишь тенденции по уменьшению активности ПОЛ с возрастом. Воздействие иммобилизации как стресс-фактора приводило к увеличению активности ПОЛ в крови зрелых и старых крыс. У старых крыс при иммобилизации коэффициент перекисного окисления липидов (КПОЛ) в периферической крови увеличился на 2% ($p>0,05$), у зрелых крыс КПОЛ увеличился на 20% ($p>0,05$) (таблица 73), что соответствует началу стадии резистентности (глава 3, рис. 13, таблица 1). Уровень ПОЛ в периферической крови увеличился в результате истощения резерва неферментативной АОА, вызванного иммобилизацией. Введение Тгр+Н.к. зрелым и старым крысам, как до иммобилизации, так и на фоне иммобилизации, приводило к снижению

Таблица 73

Изменение величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ%) у зрелых и старых крыс в периферической крови при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	92±24	94±10(1)	108±22	130±12(1)
Тгр+Н.к.	86±14	88±11	105±12	105±26

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

интенсивности процессов ПОЛ в периферической крови. У старых крыс в периферической крови величина КПОЛ уменьшилась на 6% ($p>0,05$), у зрелых крыс — на 11% ($p>0,05$) по сравнению с контролем. Выявленное уменьшение КПОЛ у всех групп крыс связано с антиоксидантным эффектом L-триптофана и его производных, количество которых при комбинации L-триптофана с никотиновой кислотой увеличивается.

Изучение процессов ПОЛ в эритроцитах крови интактных зрелых и старых крыс показало наличие тенденции к уменьшению активности ПОЛ с возрастом. Иммобилизационное воздействие на зрелых и старых крыс приводило к незначительной активации ПОЛ в эритроцитах крови. Стресс-воздействие вызвало некоторое повышение КПОЛ в эритроцитах старых крыс на 4% ($p>0,05$), у зрелых крыс КПОЛ эритроцитов увеличился на 8% ($p>0,05$) (таблица 74). Иммобилизация как экстремальный фактор привела к повышению ПОЛ в эритроцитах, демонстрируя прооксидантный эффект.

Введение Trp+Н.к. зрелым крысам, как до, так и во время иммобилизации, привело к проявлению тенденции антиоксидантного эффекта, выраженного в уменьшении КПОЛ эритроцитов крови на 12% ($p>0,05$). Следует отметить, что воздействие Trp+Н.к. на эритроциты старых крыс даже не привело и к таким изменениям. Возможно, влияние Trp+Н.к. на эритроциты зрелых и старых крыс происходило опосредованно через плазму крови, в результате чего

Таблица 74

Изменение величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ%) в эритроцитах крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Trp+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммоби- лизации	иммоби- лизация	до иммоби- лизации	иммоби- лизация
контроль	91±4(1)	95±16	103±8(1)	111±26
Trp+Н.к.	91±19	94±15	92±9	97±5

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

наблюдалась низкая антиокислительная эффективность действия Тгр+Н.к. на процессы ПОЛ в эритроцитах.

Таким образом, Тгр+Н.к. оказывал на животных антиоксидантный эффект с увеличением значений КАОА в норме и при стрессе. Введение Тгр+Н.к. могло создавать в крови крыс дополнительный резерв неферментативной АОС, увеличивающий общую АОА организма. Сравнение между зрелыми и старыми крысами показало, что с возрастом антиоксидантное влияние Тгр+Н.к. на АОА в крови уменьшается. Известно, что с возрастом в процессе старения происходит снижение активности многих ферментных систем [5; 149]. Поэтому можно предположить, что снижение антиокислительной активности сочетания Тгр+Н.к. в крови старых крыс связано с возраст-зависимым снижением активности ферментных комплексов, принимающих участие в метаболизме L-триптофана.

Воздействие Тгр+Н.к. уменьшало или приводило к норме значения КПОЛ в контрольных и опытных группах животных. В эритроцитах антиоксидантный эффект наблюдался не от прямого действия Тгр+Н.к., а опосредованно — через изменения, произошедшие в плазме крови. Изучение ПОЛ в периферической крови и эритроцитах подтвердило данные об антиоксидантном действии сочетания Тгр+Н.к. у зрелых и старых крыс.

7.2. Влияние комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в миелокариocyтах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

У интактных крыс до иммобилизации уровень коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) в миелокариocyтах с возрастом не изменялся. Иммобилизационное стресс-воздействие вызывало увеличение КПОЛ в миелокариocyтах старых крыс на 21% ($p < 0,05$), у зрелых — увеличение на 43% ($p < 0,05$) (таблица 75). Это соответствует началу фазы резистентности с инициацией механизмов адаптации, связанных с усилением синтеза антиокислительных ферментов и инактивации ПОЛ (глава 3, рис. 26, таблица 9).

Изменение величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ%) в миелокариоцитах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	98±21	119±13	100±8	143±14(1)
Тгр+Н.к.	85±7	102±16	94±15	95±14 (1)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

Введение Тгр+Н.к. привело к понижению величины КПОЛ в миелокариоцитах интактной группы старых крыс на 13% ($p > 0,05$), в группе с иммобилизацией — на 14% ($p > 0,05$). Воздействие Тгр+Н.к. на интактных и иммобилизованных зрелых крыс также приводило к нормализации, а затем к дальнейшему уменьшению показателей КПОЛ в миелокариоцитах. У зрелых интактных крыс уровень КПОЛ в миелокариоцитах понизился на 6% ($p > 0,05$), после иммобилизации уровень КПОЛ уменьшился на 33% ($p > 0,05$) (таблица 75). Эти данные характеризуют комбинацию Тгр+Н.к. как эффективный антиоксидант, нормализующий уровень ПОЛ в миелокариоцитах костного мозга в нормальных условиях и при экстремальном воздействии. При анализе возрастных различий в изменениях величины КПОЛ миелокариоцитов между зрелыми и старыми крысами были получены данные, демонстрирующие выраженное влияние Тгр+Н.к. на ПОЛ миелокариоцитов зрелых крыс. В данном случае можно провести аналогию с периферической кровью, где влияние Тгр+Н.к. на ингибирование процессов ПОЛ у зрелых крыс было более значимо, чем у старых крыс (таблицы 73, 74). Возможно, обнаруженные различия между зрелыми и старыми животными связаны с изменениями или нарушениями в метаболизме L-триптофана, происходящими при старении.

У интактных крыс до иммобилизации уровень КАОА в миелокариоцитах с возрастом не изменялся. При иммобилизации

в миелокариocyтах зрелых и старых крыс произошло уменьшение значений КАОА, у старых крыс уровень КАОА уменьшился на 17% ($p>0,05$), у зрелых крыс — на 30% ($p<0,05$) (таблица 76) по сравнению с интактными крысами. Эти данные соответствуют началу фазы резистентности при стресс-реакции, или 12 часам после иммобилизационного стресс-воздействия; на данном этапе запускаются механизмы долгосрочной адаптации в виде начала синтеза ферментов АОС (глава 3, рис. 35).

Воздействие Тгр+Н.к., как неферментативного антиоксиданта группы индольных производных, закономерно приводило к увеличению неферментативной АОА в миелокариocyтах зрелых и старых крыс. Воздействие Тгр+Н.к. зрелых крыс вызвало увеличение значения КАОА в миелокариocyтах на 6% ($p>0,05$), аналогичное воздействие на старых крыс увеличило КАОА на 26% ($p>0,05$) (таблица 76) по сравнению с контролем.

Введение Тгр+Н.к. животным разного возраста и последующее за этим экстремальное воздействие значительно увеличило КАОА в миелокариocyтах крыс. У старых крыс введение Тгр+Н.к. и последующая иммобилизация увеличили КАОА в миелокариocyтах на 80% ($p<0,05$), у зрелых крыс — на 113% ($p<0,05$) (таблица 76). В данном случае Тгр+Н.к. показал выраженные антиоксидантные свойства на костный мозг зрелых и старых крыс в норме и при иммобилизационном стресс-воздействии.

Таблица 76

Изменение величины коэффициента антиокислительной активности (КАОА%) в миелокариocyтах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	91±8(1)	63±9(2,1)	89±14	74±12(4)
Тгр+Н.к.	115±28	114±12(2,3)	94±13(5)	158±27(3,4,5)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

При изучении возрастных различий было выявлено, что Тгр+Н.к. в большей степени увеличивал КАОА в миелокариоцитах зрелых крыс. КАОА в миелокариоцитах зрелых крыс после введения Тгр+Н.к. и последующей иммобилизации был больше на 39% ($p<0,05$) (таблица 76) по сравнению со старыми крысами в аналогичных условиях.

Иммобилизационное стресс-воздействие у зрелых и старых крыс вызвало уменьшение активности каталазы в миелокариоцитах костного мозга. У старых крыс после иммобилизации активность каталазы в миелокариоцитах уменьшилась на 23% ($p>0,05$), у зрелых крыс — на 10% ($p>0,05$) (таблица 77) по сравнению с интактными животными. Введение Тгр+Н.к. зрелым и старым крысам до иммобилизации не привело к увеличению активности каталазы в костном мозге. Воздействие Тгр+Н.к. на фоне иммобилизации также не показало заметного увеличения активности каталазы в костном мозге зрелых и старых крыс (таблица 77).

При изучении данных по неферментативной АОА были получены результаты, позволяющие утверждать, что влияние Тгр+Н.к. на АОА миелокариоцитов костного мозга заключается в увеличении неферментативной составляющей АОС.

Воздействие Тгр+Н.к. на зрелых и старых крыс до и после иммобилизации приводило к увеличению неферментативной АОА в миелокариоцитах. У старых крыс как до, так и во время иммобилизации Тгр+Н.к. увеличивал неферментативную АОА в миелокариоцитах на 52% ($p<0,05$), у зрелых крыс — на 63% ($p<0,05$) (таблица 78)

Таблица 77

Активность каталазы (мккат/мг белка) в миелокариоцитах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	4,05±1,46	3,10±0,71	2,17±0,25	1,96±0,54
Тгр+Н.к.	3,82±0,25	3,14±0,64	2,21±0,42	2,09±0,55

Изменение общей неферментативной антиокислительной активности (ОАА%/мг белка) в миелокариocyтах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	20±2(1,2)	25±2(2,4,5)	21±5(7)	19±2(4,8)
Тгр+Н.к.	29±5(1,3)	40±3(3,5,6)	33±2(7)	32±3(6,8)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

по сравнению с контролем. Тгр+Н.к. оказывал выраженный антиоксидантный эффект на миелокариocyты костного мозга зрелых и старых крыс, в 1,5 раза увеличивая силу неферментативной АОА.

Таким образом, воздействие комбинации Тгр+Н.к. на зрелых и старых крыс приводило к однозначному антиоксидантному эффекту в миелокариocyтах костного мозга. Комбинация Тгр+Н.к. уменьшала уровень КПОЛ в миелокариocyтах при нормальных условиях и нормализовала уровень ПОЛ при иммобилизационном стресс-воздействии. При анализе возрастных различий в изменениях КПОЛ миелокариocyтов между зрелыми и старыми крысами были получены данные, демонстрирующие более выраженный антиоксидантный эффект Тгр+Н.к. на миелокариocyты зрелых крыс. Возможно, что обнаруженные различия между зрелыми и старыми крысами связаны с изменениями или нарушениями в метаболизме L-триптофана, происходящими при старении. При изучении АОА в миелокариocyтах зрелых и старых крыс было определено, что Тгр+Н.к. проявлял сильное антиокислительное действие как неферментативный антиоксидант. Воздействие комбинации Тгр+Н.к. как до иммобилизации, так и во время иммобилизации достоверно в 1,5 раза увеличивало уровень общей неферментативной АОА в миелокариocyтах зрелых и старых крыс. При изучении действия Тгр+Н.к. на ферментативную часть АОС изменений обнаружено не было: Тгр+Н.к. не влиял на активность антиокислительных ферментов.

7.3. Влияние комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в головном мозге зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

У зрелых и старых интактных крыс уровень коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) в головном мозге не отличался, возрастных различий не выявлено. После иммобилизационного стресс-воздействия значение КПОЛ в головном мозге старых крыс увеличилось на 13% ($p>0,05$), проявился прооксидантный эффект иммобилизации. Однако введение комбинации Тгр+Н.к. на фоне стресс-воздействия привело к стойкому понижению КПОЛ на 31% ($p<0,05$), что говорит об антиоксидантном влиянии Тгр+Н.к. на головной мозг старых крыс (таблица 79).

Воздействие сочетания Тгр+Н.к. на группу зрелых крыс после иммобилизационного стресс-воздействия также привело к уменьшению КПОЛ на 35% ($p>0,05$). Следует отметить, что введение Тгр+Н.к. интактным группам зрелых и старых крыс не вызывало значимого изменения КПОЛ в головном мозге (таблица 79).

Изменения активности фермента ФЛА2 и величина КПОЛ головного мозга зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии находились между собой в прямой зависимости.

Таблица 79

Изменение величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ%) в головном мозге зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	105±34	118±22(1)	105±14	113±25(2)
Тгр+Н.к.	103±17	87±6(1)	104±13	69±20(2)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Повышение активности ФЛА2 приводило к аналогичным изменениям КПОЛ в головном мозге зрелых и старых крыс (таблица 80), особенно в группах после иммобилизационного стресс-воздействия. Воздействие комбинации Trp+Н.к. на старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии приводило к снижению активности ФЛА2 на 14% ($p>0,05$), у зрелых крыс — на 46% ($p<0,05$). Уменьшая активность ФЛА2, сочетание Trp+Н.к. блокировало образование свободных жирных кислот и тем самым уменьшало интенсивность процессов ПОЛ.

Таким образом, в головном мозге крыс при стресс-воздействии сочетание Trp+Н.к. проявляло себя как антиоксидант, понижающий уровень ПОЛ и активность фермента ФЛА2 в обеих возрастных группах.

При изучении коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в головном мозге крыс выявились закономерности, демонстрирующие возрастные различия между крысами зрелого и старого возраста. В головном мозге интактных старых крыс величина КАОА была меньше на 8% ($p>0,05$), что показывает тенденцию к снижению АОА в головном мозге с возрастом (таблица 81).

Изменения КАОА в головном мозге зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии находились в прямой зависимости от изменений КПОЛ, то есть изменения КПОЛ, вызванные иммобилизацией, влекли за собой синхронные изменения КАОА (таблицы 79, 81). Таким образом, можно предположить, что АОС

Таблица 80

Изменение активности фосфолипазы А- (нкат/мг белка) в головном мозге зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Trp+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	0,37±0,23(1)	0,81±0,14(1,2)	0,54±0,08(4)	0,50±0,15(2,6)
Trp+Н.к.	0,74±0,24	0,73±0,40(3)	0,80±0,17(4,5)	0,23±0,06(3,5,6)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

в головном мозге зрелых крыс активно реагирует на изменения ПОЛ, что связано с работой антиокислительных ферментов и в частности каталазы, активность которой (таблица 82) у всех зрелых крыс, прошедших иммобилизацию, была выше, чем у старых крыс, на 32% ($p>0,05$). Применение комбинации Тгр+Н.к. приводило к увеличению активности каталазы и КАОА у всех исследуемых групп зрелых крыс, Тгр+Н.к. проявлял себя как функциональный антиоксидант.

При сравнении динамики КАОА с динамикой КПОЛ в головном мозге у старых крыс при иммобилизации обнаруживалась обратная зависимость между этими параметрами (таблицы 79, 81). В результате иммобилизационного стресс-воздействия в головном мозге старых

Таблица 81

Изменение величины коэффициента антиокислительной активности (КАОА%) в головном мозге зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	87±18	76±14(1,2)	95±14(3)	145±34(1,3)
Тгр+Н.к.	94±29	106±14(2)	135±65	86±28

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Таблица 82

Изменение активности каталазы (мккат/мг белка) в головном мозге зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	0,65±0,19	0,50±0,18	0,60±0,16	0,92±0,45
Тгр+Н.к.	0,66±0,29	0,63±0,08	1,14±0,88	0,74±0,41

крыс активировалась ФЛА2 и, как следствие, увеличивалась активность ПОЛ, но увеличения АОА не наблюдалось. Возможно, это связано с возрастным уменьшением эффективности действия ферментативной АОА, благодаря чему в головном мозге старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии основная нагрузка по антиокислительной защите осуществляется за счет неферментативных антиоксидантов.

При изучении неферментативной АОА в головном мозге между старыми и зрелыми крысами было обнаружено, что общая антиокислительная активность (ОАА) во всех исследуемых группах старых крыс меньше на 23,5% по сравнению со зрелыми крысами, в некоторых случаях достоверно (таблица 83).

Таблица 83

Изменение общей неферментативной антиокислительной активности (ОАА%/мг белка) в головном мозге зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	3,31±2,33	3,48±1,08(2)	5,96±0,98	6,26±1,37(2,3)
Тгр+Н.к.	3,17±1,20(1)	5,83±1,43	4,20±1,32(1)	3,57±1,07(3)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

В заключение можно сделать вывод, что наиболее сильное влияние Тгр+Н.к. оказывал на центральную нервную систему зрелых и старых крыс. Введение сочетания Тгр+Н.к. приводило к выраженному антиоксидантному эффекту в головном мозге зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии. В обеих возрастных группах в норме и при иммобилизации комбинация Тгр+Н.к. понижала величину КПОЛ и повышала антиокислительную активность, у старых крыс усиливалась неферментативная АОА, у зрелых крыс — активность каталазы.

7.4. Влияние комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в печени зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Так как в печени проходят основные метаболические пути и, в частности, пути анаболизма и катаболизма аминокислот, то следует предположить, что наиболее сильный антиоксидантный эффект продуктов метаболизма L-триптофана (индоллов) будет наблюдаться в печени, где они, собственно, и образуются.

У интактных крыс до иммобилизации величина коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) в печени с возрастом не изменялась (таблица 84). Иммобилизационное стресс-воздействие привело к значимой активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени крыс разного возраста, у крыс старого возраста КПОЛ увеличился на 10–20% ($p>0,05$), у крыс зрелого возраста — на 6–11% ($p>0,05$).

Обнаруженное увеличение КПОЛ может быть связано с активацией фермента фосфолипазы А₂ (ФЛА₂). Активность фермента ФЛА₂ у старых крыс в печени после стресс-воздействия увеличилась на 21% ($p<0,05$), у зрелых крыс — на 39% ($p>0,05$) (таблица 85).

Введение в организм животных разного возраста сочетания Трп+Н.к. приводило к уменьшению КПОЛ, у старых крыс КПОЛ

Таблица 84

Изменения величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ%) в печени зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Трп+Н.к.)

<i>Название групп</i>	<i>Старые крысы</i>		<i>Зрелые крысы</i>	
	<i>до иммобилизации</i>	<i>иммобилизация</i>	<i>до иммобилизации</i>	<i>иммобилизация</i>
Контроль	104±21	114±23	106±25	112±30
Трп+Н.к.	94±18	113±28	70±12	81±11

Изменение активности фосфолипазы A2 (нкат/мг белка) в печени зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	0,33±0,02(1,2)	0,44±0,06(2)	0,49±0,05(1)	0,58±0,31
Тгр+Н.к.	0,39±0,07	0,50±0,37	0,58±0,17	0,90±0,18

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

понижился на 1–8% ($p > 0,05$), у зрелых крыс — на 31–36% ($p > 0,05$) (таблица 84). То есть Тгр+Н.к. в печени животных разного возраста, как до иммобилизации, так и на фоне иммобилизации, показывал преимущественно антиоксидантные свойства, уменьшая интенсивность процессов ПОЛ. При этом эффективность антиоксидантного воздействия сочетания Тгр+Н.к. на печень крыс зрелого возраста была выраженной, чем на печень крыс старого возраста.

При изучении антиокислительной активности (АОА) выявились несколько иные закономерности, чем при изучении ПОЛ, в данном случае были обнаружены возрастные различия между старыми и зрелыми крысами.

В печени зрелых крыс после введения комплекса Тгр+Н.к. произошло уменьшение величины КАОА, что не означает отсутствие антиоксидантного влияния комбинации на печень зрелых животных. КАОА в печени зрелых крыс после введения Тгр+Н.к. до иммобилизационного стресс-воздействия уменьшился на 11% ($p > 0,05$), после стресс-воздействия уменьшился на 71% ($p < 0,05$) (таблица 86).

В печени интактных старых крыс было обнаружено уменьшение величины КАОА на 48% ($p < 0,05$), что может быть прямым следствием возрастзависимой деградации антиокислительной системы (АОС) печени у старых крыс (таблица 86). Введение комбинации Тгр+Н.к. старым крысам вызвало увеличение КАОА в печени, что дополнительно доказывает антиоксидантные свойства комбинации. Введение Тгр+Н.к. группе старых крыс до иммобилизации увели-

чило значение КАОА в печени на 59% ($p<0,05$), после иммобилизационного стресс-воздействия увеличение составило 46% ($p>0,05$) по сравнению с контрольными крысами.

В данном случае увеличение АОА в печени могло произойти за счет активации как ферментативной, так и неферментативной АОС. К примеру, активность каталазы, как одного из показательных антиокислительных ферментов, после введения Тгр+Н.к. старым интактным крысам увеличилась на 70,5% ($p<0,05$), а после иммобилизации увеличилась на 37,6% ($p>0,05$) (таблица 87).

Введения Тгр+Н.к. старым крысам также привело к увеличению в печени неферментативной АОА, в этой группе крыс

Таблица 86

Изменение величины коэффициента антиокислительной активности (КАОА%) в печени зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	63±22(1,2)	72±16(3,4)	121±25(2)	147±42(3,5)
Тгр+Н.к.	122±16(1)	118±44(4)	110±32	71±9(5)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Таблица 87

Изменение активности каталазы (мккат/мг белка) в печени зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	3,65±1,72(1,2)	5,16±1,47	8,69±3,00(2)	8,90±3,60
Тгр+Н.к.	8,30±1,65(1)	7,64±4,50	5,63±1,88	4,78±0,91

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

до стресс-воздействия произошло увеличение КАОА на 30% ($p>0,05$), после иммобилизации — на 104% ($p>0,05$) по сравнению с контролем (таблица 88).

Таблица 88

Изменение общей неферментативной антиокислительной активности (ОАА%/мг белка) в печени зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	4,29±1,87	2,20±1,71(1)	5,41±1,98	7,07±1,07(1,2)
Тгр+Н.к.	5,87±0,66	7,73±4,29	5,25±1,92	4,37±0,70(2)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Таким образом, сочетание Тгр+Н.к. оказывало преимущественно антиоксидантный эффект на печень животных как до иммобилизации, так и на фоне иммобилизационного стресс-воздействия. Особенно заметное влияние Тгр+Н.к. оказал на печень старых крыс: введение Тгр+Н.к. приводило в этой группе к заметному уменьшению ПОЛ и увеличению активности антиокислительной системы.

7.5. Влияние комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты на изменение липидного и липопротеинового состава крови у зрелых и старых крыс в норме и при иммобилизационном стресс-воздействии

В связи с тем, что сочетание L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.) обладает заметным антиоксидантным эффектом, можно предположить, что оно положительно может влиять на липидный и липопротеиновый состав крови.

При изучении количества общих липидов (ОЛ) в сыворотке крови у зрелых и старых крыс была обнаружена тенденция к уменьшению их количества с возрастом на 16% ($p>0,05$). При иммобили-

зационном стресс-воздействии количество ОЛ в сыворотке крови старых крыс не менялось, у зрелых крыс стресс-воздействие привело к понижению уровня липидов на 20,5% ($p<0,05$). Введение сочетания Тгр+Н.к. крысам разного возраста до иммобилизации приводило к уменьшению уровня ОЛ в крови; у старых крыс он снизился на 5,5% ($p>0,05$), у зрелых — на 11,5% ($p>0,05$) по сравнению с интактными крысами. Воздействие Тгр+Н.к. на фоне иммобилизационного стресс-воздействия не приводило к значимым изменениям количества ОЛ в сыворотке крови животных (таблица 89).

Таким образом, Тгр+Н.к. не оказывал существенного влияния на количество ОЛ в периферической крови у зрелых и старых крыс. В контрольной группе зрелых и старых крыс при воздействии Тгр+Н.к. наблюдалась тенденция по уменьшению уровня ПОЛ. У зрелых крыс влияние Тгр+Н.к. на ОЛ периферической крови было более значимо, чем у старых крыс.

При изучении уровня триглицеридов (ТГ) было выявлено, что в сыворотке крови интактных старых крыс их уровень был больше на 50% ($p<0,05$), чем у интактных зрелых крыс (таблица 90). Введение комбинации Тгр+Н.к. крысам приводило к понижению в сыворотке крови животных количества ТГ: у старых крыс ТГ стало меньше на 0,5% ($p>0,05$) у зрелых — на 9,5% ($p>0,05$).

Иммобилизационное стресс-воздействие увеличивало количество ТГ в крови зрелых крыс на 43% ($p<0,05$). Введение сочетания Тгр+Н.к. на фоне иммобилизации не привело уровень ТГ к норме.

Таблица 89

Изменение количества общих липидов (г/л) в сыворотке крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	4,23±0,90	4,36±0,80	5,02±0,26(1)	4,12±0,53(1)
Тгр+Н.к.	3,99±0,31	4,66±0,54	4,51±0,38	4,17±0,45

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

Таблица 90

Изменение количества триглицеридов (ммоль/л) в крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	2,27±0,20(1)	2,05±0,64	1,34±0,12(1,3)	1,89±0,19(3)
Тгр+Н.к.	2,26±0,65(2)	2,62±0,23	1,15±0,16(2,4)	2,31±0,35(4)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

У старых крыс воздействие сочетания Тгр+Н.к. на фоне иммобилизации увеличивало количество ТГ в крови на 29% ($p > 0,05$), у зрелых крыс — на 21% ($p > 0,05$) по сравнению с интактными животными.

Таким образом, воздействие комплекса Тгр+Н.к. на зрелых и старых крыс приводило к уменьшению количества ТГ в сыворотке крови, и особенно у зрелых крыс; при иммобилизационном стресс-воздействии Тгр+Н.к. вызывал увеличение ТГ в сыворотке, особенно значимо у зрелых крыс.

У интактных крыс возрастных различий в количестве фосфолипидов (ФЛ) сыворотки крови обнаружено не было (таблица 91). Изучение ФЛ в сыворотке крови при иммобилизации показало тен-

Таблица 91

Изменение количества фосфолипидов (ммоль/л) в сыворотке крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	7,43±0,34	8,05±0,59(1)	7,20±0,53	7,18±0,41(2)
Тгр+Н.к.	6,07±1,60	5,86±0,60(1)	5,77±1,64	5,66±1,24(2)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

денцию к уменьшению количества этих липидов, у старых и крыс количество ФЛ уменьшилось на 8% ($p>0,05$), у зрелых крыс изменений не произошло по сравнению с интактными крысами.

Введение животным комбинации Тгр+Н.к., как до иммобилизации, так и после иммобилизации, вызывало уменьшение количества ФЛ в сыворотке крови, причем в обеих возрастных группах: у старых крыс уровень ФЛ уменьшился на 22,7% ($p<0,05$), у зрелых крыс — на 20,5% ($p<0,05$) (таблица 91). Возможно, что обнаруженное уменьшение количества фосфолипидов в сыворотке крови на фоне введения сочетания Тгр+Н.к. может быть связано с началом активного образования липопротеинов высокой плотности.

При изучении ФЛ эритроцитов (Ег) наблюдалась аналогичная ситуация, что и при изучении сыворотки крови. Комбинация Тгр+Н.к. вызвала понижение уровня ФЛ в Ег старых крыс на 30,5% ($p>0,05$), в Ег зрелых крыс — на 8,5% ($p>0,05$) по сравнению с контролем (таблица 92).

Таким образом, Тгр+Н.к. у животных обеих возрастных групп, как до, так и после иммобилизационного стресс-воздействия, и в сыворотке, и в эритроцитах крови вызывал уменьшение количества ФЛ. Возрастных различий во влиянии Тгр+Н.к. на количество фосфолипидов сыворотки и Ег крови не выявлено.

При сравнении между интактными зрелыми и старыми крысами количества общего холестерина (ХС) в сыворотке крови достоверных различий обнаружено не было (таблица 93). После

Таблица 92

Изменение количества фосфолипидов (нмоль/Ег) в эритроцитах крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	$2,0 \times 10^{-5} \pm 2,3 \times 10^{-6}$	$2,4 \times 10^{-5} \pm 7,4 \times 10^{-6}$	$1,7 \times 10^{-5} \pm 6,9 \times 10^{-6}$	$1,8 \times 10^{-5} \pm 1,1 \times 10^{-6}$
Тгр+Н.к.	$1,6 \times 10^{-5} \pm 2,6 \times 10^{-6}$	$1,7 \times 10^{-5} \pm 3,8 \times 10^{-6}$	$1,6 \times 10^{-5} \pm 3,5 \times 10^{-6}$	$1,6 \times 10^{-5} \pm 2,3 \times 10^{-6}$

Изменение количества холестерина (ммоль/л) в сыворотке крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	1,89±0,18	2,06±0,07(1)	1,89±0,05	1,89±0,24
Тгр+Н.к.	1,69±0,12	1,71±0,13(1)	1,72±0,25	2,07±0,49

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

иммобилизационного стресс-воздействия количество общего холестерина в сыворотке крови старых животных увеличилось на 5% ($p > 0,05$), у зрелых животных — на 9,3% ($p > 0,05$).

Введение комбинации Тгр+Н.к. старым крысам на фоне иммобилизации приводило к нормализации уровня ХС в сыворотке крови. Так, если до введения Тгр+Н.к., но в ходе иммобилизации уровень ХС в сыворотке крови старых крыс увеличился на 9% ($p > 0,05$), тогда как после введения Тгр+Н.к. уровень ХС уменьшился на 9,6% ($p > 0,05$) по сравнению с интактными крысами (таблица 93).

Таким образом, комбинация Тгр+Н.к. лишь имела тенденцию по положительному влиянию на уровень холестерина сыворотки крови животных обеих возрастных групп, уменьшая его уровень. У старых крыс на фоне иммобилизационного стресс-воздействия введение сочетания Тгр+Н.к. приводило уровень холестерина к норме, у зрелых крыс аналогичного эффекта не наблюдалось.

Изменение липопротеинового состава крови, как в норме, так и в эксперименте, происходило в некоторых случаях аналогично с изменением липидов крови. Так, например, количество липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) изменялось аналогично количеству ТГ (таблицы 90, 94). Ведение комплекса Тгр+Н.к. до иммобилизации не изменяло количество ЛПОНП, а после иммобилизации увеличивало их в обеих возрастных группах. Следует отметить, что количество ЛПОНП во всех исследуемых группах старых крыс было больше на 54% ($p < 0,05$), чем у зрелых крыс. При

Изменение количества липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП, ммоль/л) в крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	0,45±0,05(1)	0,41±0,13	0,27±0,03(1,3)	0,37±0,04(3)
Тгр+Н.к.	0,48±0,12(2)	0,51±0,05	0,23±0,03(2,4)	0,46±0,07(4)

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

иммобилизационном стресс-воздействии уровень ЛПОНП у старых крыс практически не менялся, а у зрелых крыс увеличивался в 1,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с интактными крысами (таблица 94).

Аналогичная ситуация складывалась при изучении липопротеинов низкой плотности (ЛПНП). Так, в норме, количество ЛПНП крови старых крыс было больше на 37% ($p > 0,05$), чем у зрелых крыс. Введение комплекса Тгр+Н.к. старым крысам при иммобилизационном стресс-воздействии привело уровень ЛПНП сыворотки крови к нормальным значениям; так, на фоне стресса до инъекции Тгр+Н.к. количество ЛПНП было больше на 41% ($p < 0,05$), а после инъекции — больше всего на 10% ($p > 0,05$) по сравнению с интактными крысами (таблица 95).

Таким образом, иммобилизационное стресс-воздействие оказывало негативное влияние на липопротеиновый состав крови, увеличивая количество ЛПНП и ЛПОНП в обеих возрастных группах. Введение старым крысам Тгр+Н.к. при иммобилизационном стресс-воздействии приводило количество ЛПНП и ЛПОНП в сыворотке крови к нормальным значениям, а у зрелых крыс увеличивало количество этих липопротеинов.

При изучении липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), как в норме, так и при инъекции Тгр+Н.к., возрастных различий не выявлено. Иммобилизационное стресс-воздействие у старых животных вызвало уменьшение уровня ЛПВП на 19% ($p > 0,05$), а у зрелых

Таблица 95

Изменение количества липопротеинов низкой плотности (ЛПНП, ммоль/л) в крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Трп+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	0,92±0,10(1,2)	1,33±0,08(2,3)	0,77±0,10	0,83±0,11(3)
Трп+Н.к.	1,30±0,33(1)	1,02±0,34	0,72±0,08	1,03±0,27

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

изменений не произошло. Введение Трп+Н.к. старым и зрелым крысам до иммобилизационного стресс-воздействия увеличивало количество ЛПВП в сыворотке крови: у старых крыс их стало больше на 6% ($p > 0,05$), у зрелых — больше на 3,5% ($p > 0,05$).

Наиболее интересные результаты были получены при изучении ЛПВП при иммобилизационном стресс-воздействии и введении комбинации Трп+Н.к. У старых крыс инъекция Трп+Н.к. на фоне иммобилизации увеличивала количество ЛПВП в сыворотке крови на 26% ($p > 0,05$), у зрелых крыс происходило увеличение на 12% ($p > 0,05$). Причем если у старых животных количество ЛПВП сыворотки крови вернулось лишь к норме, то у зрелых их количество превысило норму на 12% ($p > 0,05$) (таблица 96).

Таблица 96

Изменение количества липопротеинов высокой плотности (ЛПВП, ммоль/л) в крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Трп+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	0,83±0,11(1)	0,67±0,09(1)	0,85±0,03	0,85±0,15
Трп+Н.к.	0,88±0,13	0,89±0,35	0,88±0,23	0,95±0,20

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

Липопротеиновый коэффициент (ЛК) крыс является аналогом коэффициента атерогенности человека и суммарным показателем, включающим в себя все данные по липопротеиновой фракции. Изучение интегрального липопротеинового коэффициента (ЛК) у зрелых и старых крыс в некоторой степени подтверждает ранее сделанные выводы об изменениях, происходящих у крыс в норме, при иммобилизации и в условии коррекции этих состояний комбинацией Тгр+Н.к. (таблица 97).

Таблица 97

Изменение липопротеинового коэффициента в крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.)

Название групп	Старые крысы		Зрелые крысы	
	до иммобилизации	иммобилизация	до иммобилизации	иммобилизация
Контроль	1,65±0,20 (1,2)	2,59±0,32 (2,3,4)	1,22±0,10 (1)	1,41±0,20 (3)
Тгр+Н.к.	2,02±0,44 (5)	1,72±0,52 (4)	1,07±0,20 (5)	1,59±0,35

Примечание: одинаковые цифры в скобках — пары достоверно различающихся показателей между группами ($p < 0,05$).

Липопротеиновый коэффициент (ЛК) рассчитывали по формуле:

$$\text{ЛК} = (\text{ЛПОНП} + \text{ЛПНП}) / \text{ЛПВП}.$$

Значение ЛК у старых интактных крыс в сыворотке крови было больше на 35% ($p < 0,05$), чем у зрелых крыс. После иммобилизационного стресс-воздействия значение ЛК у старых животных увеличилось на 57% ($p < 0,05$), у зрелых животных — на 16% ($p > 0,05$). Введение комбинации Тгр+Н.к. при иммобилизационном стресс-воздействии зрелым животным увеличивало ЛК в сыворотке крови на 13% ($p > 0,05$), у старых крыс происходило выраженное уменьшение величины коэффициента на 34% ($p < 0,05$).

Таким образом, иммобилизационное стресс-воздействие вызывало негативные проатерогенные сдвиги в липидном и липопротеиновом составе крови у зрелых и старых крыс. Введение Тгр+Н.к. зрелым и старым животным приводило к норме большинство показателей

липидного и липопротеинового спектра крови. У старых животных сочетание Тгр+Н.к. на фоне иммобилизационного стресс-воздействия достоверно уменьшало ЛК, т.е. оказывало геропротективный гиполипидемический эффект, у зрелых крыс подобного эффекта не выявлено. Однако следует отметить, что введение Тгр+Н.к. при стресс-воздействии приводило к тому, что ЛК как у старых, так и у зрелых крыс стал очень близок по величине.

7.6. Влияние комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты на психоэмоциональное состояние зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

При изучении поведения животных в тесте «открытое поле» было выяснено, что стресс-воздействие в виде иммобилизации вызывает снижение величины коэффициента суммарной двигательной активности (КСДА). Иммобилизация уменьшила двигательную активность у старых крыс на 76% ($p<0,05$), у зрелых крыс — на 57% ($p<0,05$) (таблица 98) по сравнению с контролем.

Введение комбинации Тгр+Н.к. зрелым и старым животным вызывало увеличение двигательной активности: у старых крыс Тгр+Н.к. увеличивал величину КСДА на 30% ($p<0,05$), у зрелых крыс — на 72% ($p<0,05$) по сравнению с крысами, получавшими инъекцию физраствора. Воздействие сочетания Тгр+Н.к. и последующая иммобилизация привели к увеличению величины КСДА у старых крыс на 122% ($p<0,05$), у зрелых крыс изменений не выявлено. Двигательная активность при воздействии Тгр+Н.к. и с последующей иммобилизацией у старых крыс полностью сравнивалась с двигательной активностью зрелых интактных крыс, это подтверждает отсутствие достоверных различий между ними (таблица 98). Введение Тгр+Н.к., особенно старым животным, выявило его антистрессорные и антидепрессивные свойства, как минимум, на уровне поведения и двигательной активности [293]. Это может свидетельствовать о вовлечении производных L-триптофана и никотиновой кислоты в функционирование высшей нервной деятельности при иммобилизационном воздействии и развитии стресс-реакции.

Изменение коэффициента суммарной двигательной активности у зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и введении комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты (Трп+Н.к.)

Группы крыс	Конт-роль	1 сутки после инъекции	2 сутки после инъекции	3 сутки после инъекции	12 часов после иммобилизации
Зрелые (физраствор)	24,5±2,9	11,3±2,7**	7,8±2,3**	4,8±1,2**	10,5±3,6**
Старые (физраствор)	19,3±1,7*	8,5±3,0** #	4,8±0,4* ** #	4,6±1,2**	4,5±0,7* **
Зрелые (Трп+Н.к.)	23,5±4,6	9,8±6,4**	11,8±7,1**	9,8±6,8**	8,0±6,0**
Старые (Трп+Н.к.)	19,3±2,2	15,3±2,4	9,3±3,4 **	6,3±3,4**	10,0±4,8**

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении зрелых и старых крыс;

** — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой (одного возраста);

— $p < 0,05$ при сравнении между группами с инъекцией комбинации Трп+Н.к. и инъекцией физраствора (одного возраста).

В заключение можно отметить, что введение комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты крысам до и во время иммобилизационного стресс-воздействия приводило к выраженному антиоксидантному эффекту с ингибированием процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в органах и системе крови. Никотиновая кислота, участвуя в метаболизме L-триптофана, усиливала его антиоксидантные свойства, создавая дополнительный резерв в ферментативной антиокислительной защите, за счет индукции метаболизма L-триптофана по серотониновому пути. Введение комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты крысам при иммобилизационном стресс-воздействии нормализовало некоторые показатели обмена липидов крови, что продемонстрировало потенциальные протекторные и адаптационные свойства исследуемой комбинации.

Сочетание L-триптофана и никотиновой кислоты уменьшало интенсивность процессов ПОЛ и увеличивало антиокислительную активность (АОА), преимущественно в организме старых крыс: с возрастом происходит уменьшение антиокислительной эффективности комплекса L-триптофана и никотиновой кислоты. При этом

у старых крыс эта комбинация способствовала нормализации липидного состава крови, демонстрируя геропротективные качества неантиоксидантного генеза. В крови у старых крыс при стрессе комплекс L-триптофана и никотиновой кислоты увеличивало количество ЛПВП и активность антиокислительной системы, что привело к уменьшению липопротеинового коэффициента, чего у зрелых крыс в этих условиях не выявлено.

У старых крыс иммобилизационное стресс-воздействие вызывало более значимое уменьшение двигательной активности по сравнению со зрелыми крысами, что может указывать на большую зависимость липопероксидации от старения. Введение сочетания L-триптофана с никотиновой кислотой старым крысам при иммобилизационном стресс-воздействии вызывало адаптационное увеличение двигательной активности, которое может быть связано с антиоксидантным действием комплекса в головном мозге.

У интактных животных значимых возрастных физиологических, биохимических и поведенческих изменений обнаружить не удалось. Иммобилизационное стресс-воздействие вызывало физиологические (активация костного мозга), биохимические (увеличение ПОЛ, уменьшение АОА) и поведенческие (уменьшение двигательной активности) изменения у крыс, которые усиливались с возрастом. Нейромедиаторы вегетативной нервной системы участвовали в этих изменениях: с возрастом в организме крыс наблюдалось ослабление влияния парасимпатической нервной системы и усиление симпатической, что может приводить к возрастзависимым стресс-обусловленным нарушениям. Антиоксидантное серотонинергическое действие L-триптофана проявлялось в виде стресс-корректирующих возрастзависимых влияний на физиологические, биохимические и поведенческие нарушения у крыс.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процесс физиологического и особенно ускоренного (патологического) старения многогранен по своей этиологии, патогенезу и клиническим проявлениям [136; 138; 139; 141; 143; 232; 272; 409; 412; 419]. Существуют многочисленные гипотезы о его причинах, известны также и многие его механизмы. В настоящее время наиболее привлекательной его стороной в плане возможности его измерения и коррекции является участие в процессе старения перекисных механизмов. Появление и развитие в медицинской науке клеточно-технологического подхода к диагностике и коррекции заболеваний открывает новые возможности для целенаправленного геро-диагностического и профилактического подходов. Более того, в настоящее время уже появились факты, свидетельствующие о том, что помимо универсальных геропротективных воздействий должны быть использованы и ориентированные не только на отдельные органы, виды тканей, клеток, но и субклеточных структур [137; 142; 246]. В монографии представлено описание одной из таких попыток.

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) является физиологическим метаболическим процессом, представленным во всех органах и тканях организма [33; 142; 409; 141; 138; 232; 241]. Благодаря влиянию общей антиокислительной активности (АОА) уровень ПОЛ в организме поддерживается на низком уровне. При этом процессы ПОЛ участвуют во многих физиологических и биохимических процессах организма: модификации биологических мембран [33], метаболизме оксида азота [210], регуляции окислительного фосфорилирования [45], биосинтезе простагландинов и стероидных гормонов [4; 218], контроле клеточного деления [60; 137], антимикробной системе фагоцита [71; 197] и др.

Не вызывает сомнений и участие процессов ПОЛ в возрастной инволюции (старении) организма [136; 143]. Имеются данные об активации процессов ПОЛ при старении [222; 398] и снижении при этом ферментативной и неферментативной антиокислительной активности (АОА) [1; 89]. Процессы ПОЛ и защита от них являются

общепризнанной и неотъемлемой составляющей процессов старения организма.

В литературе имеются данные об активации ПОЛ и ингибировании АОА в условиях экстремальных стресс-воздействий, что является типичным патохимическим фрагментом в развитии общего адаптационного синдрома [138; 140; 232]. В ходе этого происходит нарушение проницаемости мембран, что может вызывать разобщение окисления и фосфорилирования в митохондриях, снижать чувствительность и качество рецепторных белков, а также активность ферментов и другие неблагоприятные проявления [124; 166; 224].

Снижение двигательной активности при физиологическом старении, к сожалению, является типичной ситуацией для большинства индивидуумов. Однако оно подвластно воле человека и при его желании может быть коррегировано. Напротив, вынужденная иммобилизация пожилого больного при ряде травматических, неврологических катастроф, как правило, является не подвластной воле врача и пациента и требует, в связи с невозможностью этиотропной, лишь только патогенетической и симптоматической коррекции, которые тоже не разработаны для этого возраста. Еще больше вопросов возникает, если необходимо применить коррекцию с учетом возраста пациента и стадии патологии, ведь известно, что многие лечебные воздействия в разных возрастных группах дозируются в зависимости от возраста, а на разных стадиях патологического процесса имеют даже противоположенный характер [136; 137; 140; 141; 142; 246; 409; 412].

В литературных источниках имеются противоречивые мнения на происходящие с возрастом изменения. В части источников отмечается усиление интенсивности ПОЛ с возрастом при экстремальном воздействии. Однако в других источниках отмечено отсутствие достоверных изменений ПОЛ и АОА в организме при стрессовых экстремальных ситуациях [136; 140; 141; 409; 412].

При стресс-воздействии в организме развивается общий адаптационный синдром, ведущую роль в котором играет вегетативная нервная система [3; 25; 159; 184; 236]. Нейромедиаторы симпатической вегетативной нервной системы (адреналин, норадреналин) и парасимпатической вегетативной нервной системы (ацетилхолин)

участвуют в изменениях системы ПОЛ/АОА при стрессе [88; 113; 236; 138]. Имеются данные о вовлечении катехоламинов в активацию процессов ПОЛ [166; 224], об участии ацетилхолина в изменении ПОЛ информации недостаточно. Известно, что существует антагонизм между симпатической и парасимпатической нервными системами, но об их совместном влиянии на систему ПОЛ/АОА при стрессе данные отсутствуют. В литературе, в основном, рассматривается вопрос о влиянии адреналина и ацетилхолина на ПОЛ организма зрелого возраста в физиологических условиях, но в возрастном аспекте данный вопрос в литературных источниках никак не раскрывается. Поэтому в русле цели, поставленной авторами монографии, представляет интерес изучить влияние адреналина и ацетилхолина на изменения в системе ПОЛ/АОА при экстремальном воздействии и в возрастном аспекте.

В настоящее время активно изучаются нарушения клеточной динамики при заболеваниях человека, поэтому приобретают актуальность исследования регуляции процессов, происходящих на субклеточном уровне. Установлено, что активация и торможение митохондриальных функций может производиться адреналином и ацетилхолином. Доказано, что адреналин избирательно активирует окисление сукцината и тормозит окисление α -кетоглутарата, а ацетилхолин оказывает противоположный эффект [47; 187; 431]. Активность митохондрий в организме регулируется «пульсациями» уровня этих медиаторов в крови. После «релаксации» митохондрии «пробуждаются» к активности импульсом адреналина. Исследование с использованием α -адреноблокаторов показало предотвращение изменения параметров клеточного энергообмена при иммобилизационном стрессе [47; 57; 242; 244; 285].

Наше исследование было проведено на крысах-самцах линии Вистар зрелого (8–10 месяцев, массой 200–250г) и старого (19–22 месяца, массой 350–500г) возрастов. Стрессорное воздействие моделировалось у животных путем иммобилизации. У части животных при этом адренергические и противоположные им холинергические механизмы дополнительно усиливались введением адреналина или ацетилхолина в высоких дозировках с целью выявления вклада (влияния) различных отделов симпатической нервной системы

в повреждение организма развивающимся синдромом липидной пероксидации. В этих условиях у другой части животных воспроизводилась частичная гепатэктомия с целью изучения возрастных различий в метаболических проявлениях регенераторной реакции на фоне стрессорного воздействия. Такая сложная модель повреждения организма создавалась как аналог полиморбидной патологии у ускоренно стареющих пациентов разного возраста. Состояние липидной пероксидации по комплексу показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты оценивалось как в целом органе (головной мозг, кровь, печень, миелокариоциты костного мозга), так и в выделенных дифференциальным центрифугированием изолированных клеточных фракциях гепатоцитов (митохондрии, постмитохондриальный супернатант). Возрастзависимые особенности коррекции синдрома липидной пероксидации в органах, клетках, субклеточных органеллах у стрессированных животных осуществлялись введением предшественников (индукторов) мелатонина — триптофаном с никотиновой кислотой или олигопептидом даларгином, обладающим, по данным литературы, не только мощным антиоксидантным, но и антистрессорным эффектом.

Нами впервые была обнаружена существенная роль митохондрий в свободнорадикальных механизмах старения в условиях регенерации на фоне стрессорного воздействия: процессы ПОЛ в клетках печени у старых животных в условиях стресса, а также в условиях стресса на фоне регенераторных процессов были наиболее активны в митохондриальной фракции. Причиной тому является низкая активность антиокислительных ферментов у животных данного возраста. Также нами впервые было показано, что изменения активности фосфолипазы A2 при любых примененных авторами экстремальных воздействиях наиболее выражены в митохондриальной фракции клеток печени животных. Впервые была показана неоднозначная возрастзависимая роль фосфолипазы A2 при регенерации печени во время стресса, что указывает на митохондрии и фосфолипазу A2 как на первоочередные объекты для дальнейшей разработки корректирующих воздействий в эксперименте, а в последующем — в клинической практике, связанной с лечебными мероприятиями, направленными на ускорение регенерации

ран органов и тканей в условиях вынужденной иммобилизации и, возможно, гиподинамии.

Изменения активности фосфолипазы А2 при любых примененных воздействиях были наиболее выражены в митохондриальной фракции клеток печени животных. В условиях дополнительного воздействия адреналином наибольшие изменения активности фосфолипазы А2 наблюдались у старых животных. Активность фосфолипазы А2 оказывала влияние на процессы ПОЛ в субклеточных фракциях печени.

Воздействие ацетилхолином, наоборот, способствовало снижению ПОЛ в митохондриальной фракции регенерирующей печени в условиях стресса, особенно у зрелых животных. Влияние ацетилхолина на содержание фосфолипидов в субклеточных фракциях регенерирующей печени в условиях стресса демонстрировало возрастные особенности. При воздействии ацетилхолином у зрелых животных наблюдалось увеличение содержания мембранных фосфолипидов фракции постмитохондриального супернатанта, а у старых животных — уменьшение содержания мембранных фосфолипидов данной фракции.

При старении в крови рядом авторов обнаружено избыточное количество катехоламинов, что объясняется снижением к ним чувствительности и снижением скорости их разрушения. Кроме того, выявлено, что при старении непосредственное быстрое нейрогенное управление деятельностью органов и систем со стороны симпатического отдела нервной системы и ее адаптационно-трофические воздействия заменяются медленным и менее целенаправленным гормональным способом регулирования [46; 229]. Обнаружено, что в условиях стресса у молодых животных уровень ацетилхолина и активность холинацилтрансферазы выше [121]. Особенности возрастной динамики метаболизма адреналина и ацетилхолина вносят свой вклад в возрастной дисбаланс работы митохондрий.

В эксперименте было продемонстрировано, что при стрессе в системе крови крыс нейромедиаторы вегетативной нервной системы оказывали существенное влияние на изменения интенсивности процессов ПОЛ: адреналин при иммобилизационном стресс-воздействии способствовал быстрому и более значимому увеличению интенсивности процессов ПОЛ, а ацетилхолин — более продолжительному, но менее значимому изменению ПОЛ.

Была установлена индуцирующая роль адреналина и ацетилхолина в активации ПОЛ в межклеточной среде костного мозга с последующим увеличением ПОЛ в миелокариocyтах и периферической крови. Впервые показано, что при стресс-воздействии в системе крови крыс адреналин приводил к ускорению активации процессов ПОЛ и АОА, а ацетилхолин, напротив, вызывал замедление. В исследованиях *in vitro* впервые показано возрастзависимое уменьшение вклада парасимпатической нервной системы и увеличение вклада симпатической нервной системы в активацию ПОЛ в миелокариocyтах. Данный феномен нуждается в дальнейшем изучении с учетом динамики клеточных костномозговых популяций и возраст-обусловленной регуляции гемопоэза.

С увеличением возраста у крыс наблюдалось ослабление влияния парасимпатического отдела вегетативной нервной системы (ацетилхолин) и усиление симпатического отдела вегетативной нервной системы (адреналин) на изменения интенсивности процессов перекисного окисления липидов, что способствовало более ранней активации этих процессов при иммобилизационном стресс-воздействии в системе крови старых крыс и снижению пролиферативного потенциала костного мозга при старении. Эти факты, несомненно, должны быть использованы при разработке адресной возраст-ориентированной коррекции синдрома липидной перекисной окисления

В монографии было продемонстрировано, что при иммобилизационном стресс-воздействии процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности (АОА) в системе крови крыс изменяются также и в зависимости от стадий стресс-реакции, при этом у старых крыс изменения активности процессов ПОЛ происходят раньше, чем у зрелых, что, возможно, связано с возрастзависимым уменьшением эффективности неферментативной антиокислительной системы.

При проявлении в организме дисбаланса в проокислительно-антиокислительном равновесии в первую очередь необходимо использовать антиокислительную терапию для приведения системы ПОЛ/АОА в согласованное состояние ферментов [5; 10; 28; 48; 246; 139; 140]. В данной работе для активации процессов ПОЛ было использовано иммобилизационное стресс-воздействие, которое дополни-

тельно сопровождалось психоэмоциональным напряжением. Поэтому в работе было целесообразно использовать для коррекции выявленных эффектов препарат не только с антиоксидантным, но и с антистрессорным действием. Олигопептид даларгин полностью удовлетворяет вышеперечисленным условиям. Даларгин представляет собой синтетический аналог опиоидергической системы, которая представлена во многих системах организма [110; 305; 361; 533] и играет важную роль в стресс-лимитирующих и антиокислительных реакциях [120; 206; 329]. Даларгин и другие опиоидные аналоги обладают разнообразным спектром действия, в том числе они прямо или опосредованно способны влиять на перекисный статус многих систем организма [478; 506]. При экстремальных воздействиях и после введения даларгина было обнаружено уменьшение интенсивности процессов ПОЛ и других процессов окислительной модификации биомолекул в тканях крыс [140; 233; 305; 487]. Однако, несмотря на значительное количество исследований, подтверждающих антиоксидантное действие даларгина, отдельные механизмы его действия остаются неизвестными. Кроме того, в литературе имеются данные о влиянии даларгина на пролиферативную активность клеток как активного агента, усиливающего регенерацию и ускоряющего заживление ран [146; 430; 506; 533]. Возможно, это происходит в результате наличия в концевом участке олигопептида даларгин аминокислоты аргинин, обладающей, по мнению ряда исследователей, аналогичным эффектом на деление клеток [52; 137; 249; 311; 400].

При изучении влияния в качестве корректора даларгина на периферическую кровь были получены данные, демонстрирующие его выраженные антиоксидантные свойства [140; 233]. Даларгин на фоне экстремального иммобилизационного стресс-воздействия проявил себя как антиоксидант с выраженными возрастными различиями. У старых крыс реактивность антиокислительной системы (АОС) крови на введение даларгина в норме и на фоне стресса была несколько ниже, чем у зрелых крыс, что связано с возрастзависимым снижением ответной реакции регуляторных центров антиокислительной системы на неспецифическое увеличение интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Даларгин оказывал антиоксидантное действие не за счет снижения генерации

активных форм кислорода, а за счет активации ферментативной антиоксидантной защиты тканей, в частности фермента каталазы. Активация каталазы, возможно, происходила в результате процессов миграции фермента из эритроцитов в сыворотку крови и обратно.

В миелокариocyтах костного мозга старых и зрелых крыс, как в норме, так и при иммобилизационном стресс-воздействии, даларгин показал себя как функциональный антиоксидант и стресс-протектор, уменьшающий негативные изменения в системе антиоксидательной защиты. Даларгин увеличивал активность ферментов АОС, особенно значимо эта активация происходила в костном мозге зрелых крыс. Кроме того, введение даларгина крысам, как в норме, так и при иммобилизационном стресс-воздействии, приводило к инаktivации интенсивности процессов ПОЛ в межклеточной среде и клетках костного мозга. Уменьшение ПОЛ происходило как за счет повышения активности каталазы, так и за счет уменьшения активности ФЛА2. Возрастной анализ влияния даларгина на систему ПОЛ/АОА в костном мозге показал, что даларгин сильнее действует на крыс зрелого возраста. Возможно, для крыс старого возраста необходимо увеличивать дозу введения препарата для достижения большего эффекта от его воздействия.

При изучении количества ретикулоцитов в периферической крови крыс было выявлено, что даларгин проявлял свойства активатора пролиферативных процессов в красном костном мозге. Увеличение количества ретикулоцитов под влиянием даларгина наблюдалось как до, так и после иммобилизационного стресс-воздействия; у животных старого возраста прирост в количестве ретикулоцитов был больше, чем у животных зрелого возраста. Одной из причин таких свойств даларгина может служить наличие в нем концевой аминокислоты аргинин, которая, согласно литературным данным, обладает свойствами активатора пролиферативных процессов [52; 137; 249; 311; 400].

При изучении влияния даларгина на головной мозг было обнаружено, что его воздействие не столь однозначно, как на периферическую кровь и красный костный мозг. Возрастных различий во влиянии даларгина на ПОЛ в головном мозге обнаружено не было. При изучении влияния даларгина на антиоксидательную актив-

ность (АОА) головного мозга у старых и зрелых крыс полученные данные были разрознены и недостоверны, что продемонстрировало отсутствие значимого влияния даларгина на общую АОА головного мозга крыс. Единственные обнаруженные возрастные различия в головном мозге крыс под влиянием даларгина — это проявление тенденции к росту неферментативной составляющей АОС и уменьшение активности ФЛА2 у старых крыс по сравнению со зрелыми. Вероятно, антиоксидантное влияние даларгина на головной мозг происходило не напрямую, а опосредованно, через другие системы организма (система крови, печень).

В печени старых и особенно зрелых крыс даларгин выявил выраженные свойства функционального антиоксиданта: как и в костном мозге, он активировал ферментативную составляющую АОС. При возрастном сравнении даларгин оказывал большее влияние на печень зрелых крыс. На фоне иммобилизационного стресс-воздействия введение даларгина вызывало активацию ферментативной составляющей АОА; особенно сильное влияние даларгин оказал на группу зрелых крыс, достоверно на 40% понижая уровень ПОЛ.

Даларгин оказывал благоприятный эффект на психоэмоциональный статус старых животных как до, так и после иммобилизационного стресс-воздействия. Двигательная активность у крыс старого возраста после инъекции даларгина увеличилась почти в два раза по сравнению с группой контрольных крыс. Выявленное положительное влияние даларгина на старых крыс связано с увеличением активности неферментативной компоненты АОС и уменьшением активности ФЛА2 в головном мозге при аналогичных условиях. Инъекция даларгина зрелым крысам до и после иммобилизационного стресс-воздействия не приводила к значимому и достоверному изменению двигательной активности.

В липидных фракциях сыворотки крови старых и зрелых крыс даларгин не оказывал существенного влияния на изменения их количества. Следует отметить, что даларгин у старых и зрелых крыс имел тенденцию к сдерживанию увеличения количества триглицеридов и общего холестерина, вызванного иммобилизационным стресс-воздействием. Выявленные у старых и зрелых крыс тенденции к изменениям в липидных фракциях сыворотки крови связаны

с изменениями в образовании составляющих элементов липопротеиновых компонентов.

При изучении влияния даларгина на липопротеиновый спектр крови старых и зрелых крыс было выявлено его антиатерогенное действие. У старых и зрелых крыс под влиянием даларгина на фоне иммобилизационного стресс-воздействия в сыворотке крови произошло достоверное уменьшение величины липопротеинового коэффициента (аналог коэффициента атерогенности человека). Однако механизм снижения величины липопротеинового коэффициента в сыворотке крови у старых и зрелых крыс был различен. В сыворотке крови старых крыс величина липопротеинового коэффициента снизилась в результате уменьшения количества липопротеинов низкой плотности, тогда как у зрелых крыс это произошло в результате увеличения количества липопротеинов высокой плотности.

Старение организма приводит к снижению его адаптивных возможностей [5; 246]. Особое место в адаптации занимают нейромедиаторы и гормоны, в частности, производные L-триптофана (Trp) [7]. Метаболизм Trp в организме человека и животных протекает по двум направлениям: кинурениновому и серотониновому [317; 429]. В кинурениновом пути метаболизирует до 95% Trp, конечным продуктом которого является рибонуклеотид никотиновой кислоты, который затем превращается в НАД⁺/НАДН₂. Остальные 5% Trp метаболизируют до биогенного амина серотонина, часть которого превращается в эпифизарный гормон мелатонин с выраженным антиоксидательным эффектом [171; 454] и в группу индольных производных с различными по силе антиокислительными свойствами [34; 291; 337]. Никотиновая кислота, как конечный продукт метаболизма Trp, по механизму обратной связи ингибирует фермент триптофанпирролазу, катализирующую пусковую реакцию кинуренинового пути. Поэтому введение в организм никотиновой кислоты может приводить к блокировке кинуренинового пути и, как следствие, активировать серотониновый путь с увеличением выхода серотонина, мелатонина и группы индолов (рис. 3). Увеличение уровня серотонина будет препятствовать наступлению депрессии и психоэмоционального стресса у людей [264; 270; 316; 345; 408], а увеличение количества индолов и мелатонина будет увеличивать в организме антиокис-

лительную активность и уменьшать перекисное окисление липидов. Тесная связь метаболизма эндогенной никотиновой кислоты и Тгр дает основание для их совместного использования в качестве лекарственного средства. Увеличение уровня серотонина будет препятствовать наступлению депрессии и психоэмоционального стресса у людей, а увеличение количества индолов и мелатонина будет увеличивать в организме антиокислительную активность и уменьшать перекисное окисление липидов.

L-триптофан в присутствии повышенного содержания никотиновой кислоты оказывает антиоксидантный и антистрессорный эффект [234; 235]. Никотиновая кислота участвует в метаболизме L-триптофана, повышая в организме уровень его производных, ряд из которых можно отнести к нейрометаболитам (серотонин) и антиоксидантам (мелатонин) [6; 317; 471]. В современной литературе мало информации о совместном влиянии L-триптофана и никотиновой кислоты на развитие ПОЛ, на изменение липопротеинового статуса и на развитие депрессии, вызванных стресс-воздействием. Поэтому представляет интерес изучение действия сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты на процессы ПОЛ/АОА в организме крыс разного возраста при иммобилизационном стресс-воздействии.

Применение сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Тгр+Н.к.) на зрелых и старых крысах подтвердило предположение о его антиоксидантном, гиполипидемическом и антидепрессивном действии. Сочетание Тгр+Н.к. в норме и при стрессе проявляло антиоксидантный эффект с выраженным увеличением значений коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в сыворотке крови зрелых и старых крыс. Введение сочетания Тгр+Н.к. создавало в сыворотке крови крыс дополнительный резерв в неферментативной антиокислительной системе. Сравнение между зрелыми и старыми крысами показало, что с возрастом антиоксидантное влияние Тгр+Н.к. на антиокислительную активность (АОА) в сыворотке крови уменьшается, и это связано с ухудшением в работе ферментных комплексов по метаболизму L-триптофана [471].

Изучение ПОЛ в сыворотке крови и эритроцитах подтвердило данные об антиокислительном действии сочетания Тгр+Н.к. у зрелых

и старых крыс. Воздействие Тгр+Н.к. уменьшало или приводило к норме значения коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) у контрольных и опытных групп животных. В эритроцитах крови антиоксидантный эффект наблюдался в результате опосредованного влияния сочетания Тгр+Н.к., через изменения, происходящие в сыворотке крови.

В миелокариоцитах зрелых и старых крыс сочетание Тгр+Н.к., так же как и в периферической крови, однозначно проявляло антиоксидантный эффект. Сочетание Тгр+Н.к. уменьшало уровень ПОЛ в миелокариоцитах костного мозга в нормальных условиях и нормализовало уровень ПОЛ при иммобилизационном стресс-воздействии. При анализе возрастных различий в изменениях ПОЛ между старыми и зрелыми крысами были получены данные, демонстрирующие большее влияние Тгр+Н.к. на миелокариоциты зрелых крыс; обнаруженное различие связано с возрастным нарушением в метаболизме L-триптофана [471].

При изучении АОА в миелокариоцитах зрелых и старых крыс было выявлено, что сочетание Тгр+Н.к. проявляло сильное антиокислительное действие в качестве структурного антиоксиданта. Тгр+Н.к. в 1,5 раза увеличивал уровень общей неферментативной АОА в миелокариоцитах зрелых и старых крыс в контроле и при иммобилизации. При изучении действия Тгр+Н.к. на ферментативную часть АОС изменений обнаружено не было.

Изучение головного мозга показало, что при экстремальном воздействии у старых крыс происходила активация ПОЛ. Введение Тгр+Н.к. при иммобилизации как старым, так и зрелым крысам приводило к снижению уровня ПОЛ в головном мозге. Кроме того, Тгр+Н.к. повышал антиокислительную активность: у старых крыс, в основном, усиливалась неферментативная АОА, у зрелых крыс — ферментативная АОА. Тгр+Н.к. оказывал выраженный антиоксидантный и антистрессорный эффект у зрелых и старых крыс как в норме, так и при иммобилизационном стресс-воздействии.

В печени после иммобилизационного стресс-воздействия также проявился антиоксидантный эффект Тгр+Н.к. Особенно заметное влияние Тгр+Н.к. оказал на группу старых крыс, его введение приводило уменьшению ПОЛ и активации АОС в печени.

При изучении поведения животных в тесте «открытое поле» введение Тгр+Н.к. зрелым животным изменения двигательной активности не вызвало; у старых животных, напротив, на фоне иммобилизации введение Тгр+Н.к. увеличивало двигательную активность крыс, восстанавливая ее до нормы. Таким образом, воздействие сочетания Тгр+Н.к., как минимум на уровне поведения и двигательной активности, особенно в группе старых крыс, показало свои антистрессорные и антидепрессивные свойства.

Иммобилизационное стресс-воздействие приводило к негативным изменениям в липидном и липопротеиновом составе крови у обеих возрастных групп [234; 235]. Введение Тгр+Н.к. зрелым и старым крысам нормализовало большинство показателей липидных и липопротеиновых показателей крови. Введение Тгр+Н.к. на фоне иммобилизационного стресс-воздействия привело к тому, что липопротеиновый интегральный коэффициент (ЛК) как у старых, так и у зрелых крыс стал очень близок между собой по величине. У старых животных Тгр+Н.к. в сочетании со стресс-реакцией достоверно уменьшал ЛК, т.е. оказывал стойкий гиполипидемический эффект; у зрелых крыс подобного эффекта выявлено не было.

Таким образом, введение Тгр+Н.к. зрелым крысам при иммобилизационном стресс-воздействии и без него приводило к выраженному антиоксидантному эффекту с ингибированием процессов ПОЛ в органах и системе крови крыс. Никотиновая кислота, участвуя в метаболизме L-триптофана, усиливала его антиоксидантные свойства, создавая дополнительный резерв неферментативной антиокислительной защиты за счет индукции его метаболизма по серотониновому пути. С возрастом происходило уменьшение антиокислительной эффективности совместного влияния L-триптофана и никотиновой кислоты. В крови у старых крыс при стрессе сочетание Тгр+Н.к. увеличивало количество липопротеинов высокой плотности и активность антиокислительной системы, что приводило к уменьшению коэффициента атерогенности, чего у зрелых крыс в этих условиях не выявлено.

Сочетание Тгр+Н.к. при иммобилизационном стресс-воздействии вызывало у старых крыс адаптационное увеличение двигательной активности, которое может быть связано с антиоксидантным действием

Тгр+Н.к. на головной мозг. Антиоксидантное серотонинергическое действие L-триптофана проявлялось в виде стресс-корректирующих возрастзависимых влияний на биохимические, физиологические и поведенческие нарушения у крыс, вызванные иммобилизационным стресс-воздействием.

Таким образом, иммобилизационное стресс-воздействие вызывало негативные гиперлипидемические изменения в периферической крови крыс старого возраста, но в условиях воздействия сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты наблюдалась нормализация липидного и липопротеидного состава крови, демонстрируя геропрофилактические, гиполлипидемические качества неантиоксидантного генеза.

В заключение следует отметить, что выявленные авторами монографии некоторые механизмы изменения и регуляции свободнорадикальных процессов могут быть использованы для решения экспериментальных и дальнейших клинических задач по целенаправленной коррекции уровня ПОЛ в регенерирующей печени у животных и пациентов зрелого и старого возраста путем регуляции активности фосфолипазы А2 нейромедиаторами.

Впервые выявленные в эксперименте на животных возрастные закономерности изменения уровня ПОЛ, АОЗ и метаболизма фосфолипидов в субклеточных фракциях регенерирующей печени в условиях стресс-воздействия и измененного уровня нейромедиаторов могут открыть возможности для использования корректирующих воздействий на установленные авторами монографии нарушения метаболизма в эксперименте и дальнейшего дифференцированного применения у пациентов в зависимости от их возраста в клинической практике при предоперационной подготовке, во время проведения оперативных вмешательств и послеоперационной реабилитации, которые в той или иной степени всегда сопровождаются иммобилизацией (гиподинамией, гипокинезией) и стрессом. Впервые нам удалось показать, что потребности субклеточных органелл при ускоренном экстремальными воздействиями старении в корректорах-антиоксидантах (адаптогенах) могут принципиально отличаться в зависимости от возраста организма.

Полученные результаты позволят в клинике с помощью даларгина, а также сочетания L-триптофана с никотиновой кислотой превентивно корректировать протекание ряда патологических состояний организма (травмы, постинсультные состояния, нейро-дегенеративные заболевания и опорно-двигательного аппарата), сопровождающихся вынужденной иммобилизацией и активацией ПОЛ у пациентов, с учетом их возраста. Результаты исследования могут быть использованы при разработке новых методов увеличения резистентности организмов зрелого и старого возраста к действию различных экстремальных факторов. Получила обоснование целесообразность возможного применения сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты в качестве также гиполипидемического геропротективного средства у лиц зрелого и пожилого возраста.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абраменко, Ю. В. Оценка клинической эффективности, вазоактивного и метаболического эффектов мексидола у пациентов пожилого возраста с дисциркуляторной энцефалопатией / Ю. В. Абраменко // Журнал неврологии и психиатрии. — 2011. — № 11. — С. 35.
2. Айрапетянц, М. Г. Роль свободнорадикального окисления липидов в механизмах адаптации / М. Г. Айрапетянц, Н. В. Гуляева // Вестник АМН СССР. — 1988. — № 11. — С. 49–55.
3. Акарачкова, Е. С. Синдром вегетативной дистонии у современных детей и подростков / Е. С. Акарачкова, С. В. Вершинина // Педиатрия. — 2010. — № 6. — С. 130.
4. Александровский, Ю. А. Неврозы и перекисное окисление липидов / Ю. А. Александровский, М. В. Поюровский, Г. Г. Незнамов. — М.: Наука, 1991. — 144 с.
5. Анисимов, В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения / В. Н. Анисимов. — СПб.: Наука, 2008. — Т. 1. — 481 с.; Т. 2. — 434 с.
6. Анисимов, В. Н. Световой режим, старение и рак / В. Н. Анисимов, И. А. Виноградова, М. Ф. Борисенко // Проблемы старения и долголетия. — 2012. — Т. 21, прил. — С. 5.
7. Анисимов, В. Н. Старение женской репродуктивной системы и мелатонин / В. Н. Анисимов, И. А. Виноградова. — СПб.: Изд-во «Система», 2008. — 44 с.
8. Арташян, О. С. Изучение функциональной активности тучных клеток при иммобилизационном стрессе / О. С. Арташян, Б. Г. Юшков, Е. А. Мухлынина // Цитология. — 2006. — Т. 48, № 8. — С. 665–668.
9. Иммуноферментный метод определения липопротеидов / О. И. Афанасьева, И. Ю. Адамова, Г. Ф. Беневоленская и др. // Бюл. экспер. биол. — 1995. — № 10. — С. 398–401.
10. Барабой, В. А. Влияние возраста на интенсивность перекисного окисления липидов в крови / В. А. Барабой, В. Э. Орел, Н. Н. Дзятковская // Мат. 5 Всесоюз. съезда геронто-

- гов и гериатров (Тбилиси, 22–25 ноября 1988 г.). — Киев, 1988. — Ч. 1. — С. 54.
11. Барабой, В. А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов / В. А. Барабой // Успехи современной биологии. — 1991. — Т. 111, № 6. — С. 923–931.
 12. Барабой, В. А. Роль перекисного окисления в механизме стресса / В. А. Барабой // Физиол. журн. им. Сеченова. — 1989. — Т. 35, № 5. — С. 85–97.
 13. Бараненко, В. В. Супероксиддисмутаза в клетках растений / В. В. Бараненко // Цитология. — 2006. — Т. 48, № 6. — С. 465.
 14. Безрукова, И. В. Озонотерапия в пародонтологической практике / И. В. Безрукова, Н. Б. Петрухина. — М.: Медицина, 2008. — 387 с.
 15. Беловол, А. Н. Эффективность симвастатина в профилактике и лечении атеросклеротических заболеваний / А. Н. Беловол, И. И. Князькова // Внутрішня медицина. — 2009. — № 1. — С. 64.
 16. Бизунок, Н. А. Адренергическая регуляция клеточной продукции активных форм кислорода / Бизунок Н. А., Дубовик Б. В., Наджарян А. В. // Рецепт. — 2014. — № 7. — С. 34–38.
 17. Божков, А. И. Снижается ли способность печени к регенерации с возрастом? Динамика функциональной активности митохондрий в процессе регенерации печени / А. И. Божков, В. А. Малеев // Успехи геронтологии. — 2004. — Т. 13. — С. 58–65.
 18. Бокерия, Л. А. Монография «Все о холестерине (национальный доклад)»: заключения и рекомендации / Л. А. Бокерия, Р. Г. Органов // Профилактическая медицина. — 2010. — Т. 37, № 2. — С. 37.
 19. Бондарев, С. А. Клинико-инструментальные особенности аритмического варианта клинического течения стрессорной кардиомиопатии при хроническом профессиональном физическом и психоэмоциональном перенапряжении / С. А. Бондарев // Вестник аритмологии. — 2012. — № 67. — С. 45–47.
 20. Борисов, Ю. А. Резистентность эритроцитарных мембран: механизмы, тесты, оценка (обзор литературы) / Ю. А. Борисов, В. Н. Спиридонов, Е. Д. Суглобова // Клиническая лабораторная диагностика. — 2008. — № 1. — С. 36–40.

21. Боровкова, Т. А. Современное состояние проблемы взаимоотношений цереброваскулярных и сердечно-сосудистых заболеваний в пожилом и старческом возрасте / Т. А. Боровкова, В. С. Мякотных // Успехи геронтологии. — 2010. — № 3. — С. 409–502.
22. Бродский, В. Я. Форма пролиферации клеток при регенерации тканей. Клеточная полиплоидия. / В. Я. Бродский // Современные проблемы регенерации. — Йошкар-Ола: Марийский гос. университет, 1980. — 182 с.
23. Будовская, Л. А. Механизмы воспаления при сочетании бронхиальной астмы и ишемической болезни сердца / Л. А. Будовская // Украинский пульмонологический журнал. — 2012. — № 1. — С. 68–71.
24. Влияние хронического стресса на структуру надпочечника крыс гипертензивной линии Нисаг после превентивного лечения тетразозином / И. И. Бузуева, Е. Е. Филиушина, М. Д. Шмерлинг и др. // Бюлл. СО РАМН. — 2010. — Т. 30, № 4. — С. 56–61.
25. Бузунов, А. Ф. Формирование соматических последствий адаптационного синдрома / А. Ф. Бузунов. — М.: Практическая медицина, 2010. — 339 с.
26. Буков, Ю. А. Возможности коррекции липидного обмена у женщин пожилого возраста / Ю. А. Буков, О. Н. Бурбанова // Ученые записки Таврического нац. универ. им. В. И. Вернадского. — 2012. — Серия «Биология, химия». — Т. 25, № 2. — С. 44–50.
27. Бурлакова, Е. Б. Биохимические механизмы действия антиоксидантов / Е. Б. Бурлакова // Мат. 5 Всесоюз. биохим. съезд. — М., 1985. — Т. 1. — С. 85–90.
28. Бурлакова, Е. Б. Взаимосвязь между содержанием антиоксидантов и вязкостью липидов в мембранах органелл в норме / Е. Б. Бурлакова, А. Н. Голощапов, Р. Ф. Керимов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1986. — Т. 150, № 4. — С. 431–433.
29. Бурлакова, Е. Б. Молекулярная биофизика клетки. Антиоксиданты / Е. Б. Бурлакова // Журн. Рос. хим. общества им. Д. И. Менделеева. — 2007. — Т. 51, № 1. — С. 3–8.
30. Образование супероксидных радикалов в мембранах субклеточных органелл регенерирующей печени / Л. С. Вартанян,

- И. П. Садовникова, и др. // Биохимия. — 1992. — Т. 57, № 5. — С. 671–678.
31. Визир, В. А. Современные подходы к лечению гиперлипидемии / В. А. Визир, А. Е. Березин // Запорожский медицинский журнал. — 2011. — Т. 13, № 1. — С. 108–111.
 32. Владимиров, Ю. А. Биологические мембраны и незапрограммированная смерть клетки / Ю. А. Владимиров // Соросовский образовательный журнал. — 2000. — № 9. — С. 2–9.
 33. Владимиров, Ю. В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция / Ю. А. Владимиров, Е. В. Проскурина // Успехи биологической химии. — 2009. — Т. 49. — С. 341–349.
 34. Власенко, Т. Н. Современные подходы к фармакологической профилактике радиационных поражений [Электронный ресурс] / Т. Н. Власенко, В. Б. Назаров, А. Н. Гребенюк // Фармакология. — 2010. — Т. 11. — С. 230. Режим доступа: http://www.medline.ru/public/pdf/11_019.pdf
 35. Волкова, Ю. В. Возрастные особенности изменения низкомолекулярных антиоксидантов в мозге и печени крыс, подвергнутых иммобилизационному стрессу / Ю. В. Волкова // Учен. зап. Таврического нац. универ. им. В. И. Вернадского. — 2011. — Серия «Биология, химия». — Т. 24, № 2. — С. 91–96.
 36. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / И. А. Волчегорский, И. И. Долгушин, О. Л. Колесников и др. — Челябинск: ЧГПУ, 2000. — 167 с.
 37. Гаврилов, М. А. Возрастные изменения липидного обмена и эффект трансфер фактора / М. А. Гаврилов, И. В. Мальцева, В. Е. Чернилевский // Доклады МОИП. Секция геронтологии. — М., 2012. — Т. 50. — С. 53.
 38. Гаджиев, Н. Д. Практическое значение сравнительного исследования малонового диальдегида в перитонеальном экссудате, сыворотке крови и моче у больных с распространенным перитонитом / Н. Д. Гаджиев, С. В. Сушков, Е. М. Климова // Международный медицинский журнал. — 2012. — № 1. — С. 74.

39. Газиев, А. И. Нестабильность митохондриального генома / А. И. Газиев, А. Я. Подлучкий // Митохондрии в патологии: мат. Всерос. раб. совещания. — Пущино, 2001. — С. 51–53.
40. Влияние экстремальных факторов на мужскую репродуктивную систему / Э. Ф. Галимова, Р. Р. Фархутдинов, Ш. Н. Галимов, Т. Р. Гизатуллин // Проблемы репродукции. — 2010. — № 4. — С. 60.
41. Галкин, В. В. Биологический возраст и болевой синдром при диабетической полиневропатии / В. В. Галкин, М. В. Нестерова, В. В. Емельянов // Успехи геронтологии. — 2011. — № 2. — С. 303–307.
42. Гаркави, Л. Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Л. Х. Гаркави, Е. Б. Квакина, М. А. Уколова. — Ростов н/Д: Медицина, 1990. — 120 с.
43. Геворгян, А. Ш. Изучение процесса перекисного окисления липидов в печени и легких животных при эхинококкозе / А. Ш. Геворгян // Российский паразитологический журнал. — 2011. — № 3. — С. 34.
44. Гладилов, В. В. Гипоксия и гипероксия в онтогенезе системы крови / В. В. Гладилов. — Сыктывкар: Изд-во Сыктывкар. ун-та, 1996. — 206 с.
45. Глебов, А. Н. Роль кислородсвязывающих свойств крови в развитии окислительного стресса, индуцированного липополисахаридом: монография / А. Н. Глебов, Е. В. Шульга, В. В. Зинчук; под ред. В. В. Зинчука. — Гродно: ГрГМУ, 2011. — 216 с.
46. Глыбочко, П. В. Состояние эндокринной системы и ее связь с тканями мишенями в пожилом возрасте / П. В. Глыбочко, А. А. Свистунов // Клиническая геронтология. — 2006. — Т. 6, № 5–6. — С. 40–42.
47. Голиков, С. Н. Холинэргическая регуляция биохимических систем клетки / С. Н. Голиков, В. Б. Долго-Сабуров, Н. Р. Елаев и др. — М.: Медицина, 1985. — 220 с.
48. Голубев, А. Г. Биохимия продления жизни / А. Г. Голубев // Успехи геронтологии. — 2013. — № 12. — С. 57.
49. Гомазков, О. А. Старение мозга и нейротрофическая терапия / О. А. Гомазков. — М.: ИКАР, 2011. — 92 с.

50. Горизонтов, П. Д. Стресс и система крови / П. Д. Горизонтов, О. И. Белоусова, М. И. Федотова. — М.: Медицина, 1983. — 153 с.
51. Горобец, Т. Н. Стресс и стрессообразующие факторы в характеристике, определении и «уничтожении» человека / Т. Н. Горобец, О. И. Жданов // Мир психологии. — 2008. — № 4. — С. 45.
52. Гребнев, Д. Ю. О возможности коррекции регенерации миелоидной ткани после воздействия ионизирующего излучения и введения аргинина / Д. Ю. Гребнев, А. П. Ястребов, И. Ю. Маклакова // Вестник уральской мед. академ. науки. — 2011. — № 4. — С. 80–82.
53. Гуляева, Н. В. Перекисное окисление липидов в мозге при адаптации к стрессу: автореф. дис. ... д-ра. биол. наук: 14.00.16 / Наталья Валерьевна Гуляева. — М., 1989. — 30 с.
54. Гумерова, А. А. Репаративная регенерация печени после повреждения нитратом свинца: автореф. дис. ... канд. мед. наук. / А. А. Гумерова // Казанский гос. мед. университет. — Казань, 1999. — 20 с.
55. Давыдов, В. В. Особенности свободнорадикальных процессов в печени взрослых и старых крыс при стрессе / В. В. Давыдов, И. В. Захарченко, В. Г. Овсянников // Бюлл. эксп. биологии и медицины. — 2004. — Т. 137, № 2. — С. 160–163.
56. Участие системы крови в адаптации организма к экстремальным факторам определяется как природой воздействия, так и состоянием кроветворной ткани / И. Г. Данилова, М. Н. Сумин, Б. Г. Юшков и др. // Российский физиологический журнал. — 2004. — № 10. — С. 1193–1202.
57. Дбаг, М. М. Холинергическая регуляция энергетического обмена в митохондриях миокарда: автореф. ... канд. биол. наук. / Мрван Мустафа Дбаг. — Львов, 1990. — 20 с.
58. Дильман, В. М. Старение, климакс и рак / В. М. Дильман. — Л.: Медицина, 1968. — 378 с.
59. Долгушина, А. И. Функциональная активность нейтрофилов, оксид азота и перекисное окисление липидов у больных с атеросклерозом в бассейне брюшной аорты / А. И. Долгушина,

- И. А. Волчегорский, И. И. Шапошник // Российский иммунологический журнал. — 2011. — № 2. — С. 170.
60. Роль антиоксидантов в профилактике токсического воздействия активных форм кислорода в коже / Л. А. Егоренкова, И. Г. Диковицкая, М. И. Багаева, И. М. Корсунская // Клиническая дерматология и венерология. — 2011. — № 4. — С. 75.
61. Оксидативный стресс при синдроме длительного раздавливания и его патогенетическая коррекция нанопрепаратом липосом // В. Н. Ельский, С. В. Зяблицев, С. В. Колесникова и др. // Таврический медико-биологический вестник. — 2012. — Т. 15, № 3. — С. 110.
62. Жумаева, Г. А. Особенности обмена микроэлементов у пожилых / Г. А. Жумаева, Г. Д. Жарылкасымова, В. З. Жалолова // Врач-аспирант. — 2007. — Т. 18, № 3. — С. 182.
63. Журавлев, А. И. Спонтанная сверхслабая биофлуоресценция — основа квантовой биологии / А. И. Журавлев // Успехи современной биологии. — 1991. — Т. 111, вып. 1. — С. 144–153.
64. Журавлев, Л. В. Печень и возраст: взгляд на проблему врача-терапевта / Л. В. Журавлев, О. В. Лахно, О. И. Цивенко // Пробл. старения и долголетия. — 2012. — Т. 21, № 3. — С. 316–327.
65. Замбержицкий, О. Н. Особенности проявления синдрома эмоционального выгорания у студентов-медиков / О. Н. Замбержицкий, М. В. Катковская // Здоровье и окружающая среда: сб. науч. тр. — Минск, 2009. — С. 300–303.
66. Занозина, О. В. Окислительная модификация белков в плазме крови больных сахарным диабетом типа 2 в зависимости от степени компенсации углеводного обмена и длительности заболевания / О. В. Занозина, Т. Г. Щербатюк, Н. Н. Боровков // Российский медико-биологический вестник им. акад. И. П. Павлова. — 2012. — № 12. — С. 111.
67. Звягинцева, Т. В. Влияние синтетического ингибитора матричных металлопротеиназ доксициклина на состояние процессов ПРО и антиоксидантной системы при лечении ожоговых ран в эксперименте / Т. В. Звягинцева, А. В. Александрова // Экспериментальная и клиническая медицина. — 2012. — Т. 55, № 2. — С. 5–10.

68. Зинченко, В. П. Внутриклеточная сигнализация [Электронный ресурс] / В. П. Зинченко, Л. П. Долгачева. — Пушкино: Электр. изд-во «Аналит. микроскопия», 2003. — 84 с. Режим доступа: <http://cam.psn.ru>.
69. Зубова, С. Г. TOR-центрическая концепция регуляции митогенных, метаболических и энергетических сигнальных путей в клетке / С. Г. Зубова, Ж. В. Шитикова, Т. В. Поспелова // Цитология. — 2012. — Т. 54, № 8. — С. 589.
70. Нейроимунные взаимодействия при психоэмоциональном напряжении (экспериментальное исследование) / Г. В. Идова, Е. Л. Альперина, М. А. Чейдо и др. // Бюлл. СО РАМН. — 2010. — Т. 30, № 4. — С. 31–37.
71. Извекова, В. А. Липиды мембран и функции иммунокомпетентных клеток в норме и патологии / В. А. Извекова // Успехи совр. биологии. — 1991. — Т. 111, № 4. — С. 577–581.
72. Иззати-Заде, К. Ф. Морфометрический анализ гранул серотонина тромбоцитов при мигрени / К. Ф. Иззати-Заде, В. А. Четвертных, А. А. Шутов // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. — 2011. — № 10. — С. 58–61.
73. Иллариошкин, С. Н. Антиоксиданты и свободные радикалы: вечная проблема и новые пути ее решения / С. Н. Иллариошкин // Формула здоровья. Нервы. — 2011. — № 1–2. — С. 7–11.
74. Каган, В. Е. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов / В. Е. Каган, О. Н. Орлов, Л. Л. Прилипко // Итоги науки и техники. — 1986. — Серия «Биофизика». — Т. 18. — С. 1–6.
75. Экстремальные факторы внешней среды и старение организма / П. А. Калиман, Н. И Буланкина, Г. В. Ганусова и др. // Цитология. — 1997. — Т. 39, № 6. — С. 475–481.
76. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. — М.: МЕДпресс-информ, 2004. — 920 с.
77. Активность фосфолипазы А2 в липосомах / Е. Г. Кармалита, В. Ю. Серебров, С. В. Новицкий, др. // Бюл. эксп. биол. и мед. — 2002. — Т. 134, № 9. — С. 291–295.

78. Кармен, Н. Б. Окислительный стресс в формировании гипоксии при тяжелой бронхиальной астме / Н. Б. Кармен, М. А. Абдуллаева, Л. В. Токарева // Пульмонология. — 2011. — Т. 12. — С. 665–671.
79. Карпищенко, А. И. Медицинские лабораторные технологии / А. И. Карпищенко. — СПб.: Интермедика, 2002. — 600 с.
80. Кассиль, Г. Н. Внутренняя среда организма / Г. Н. Кассиль. — М.: Наука. — 1983. — 277 с.
81. Катикова, О. Ю. Особенности витаминного статуса у больных с заболеваниями печени различной этиологии. Возможности витаминотерапии / О. Ю. Катикова, Е. В. Ших // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, коллопроктологии. — 2009. — № 3. — С. 21.
82. Кашуро, В. А. Патогенетическое и диагностическое значение системы глутатиона в оценке цитотоксического действия противоопухолевых препаратов: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук / Вадим Анатольевич Кашуро. — СПб., 2009. — 45 с.
83. Киричек, Л. Т. Стресспротекторы в коррекции воспаления слизистой оболочки полости рта / Л. Т. Киричек, Р. О. Коральчук // Международный медицинский журнал. — 2012. — № 1. — С. 101.
84. Кишкун, А. А. Биологический возраст и старение: возможности определения и пути коррекции: руководство для врачей / А. А. Кишкун. — М: ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 973 с.
85. Кишкун, А. А. Роль и значение лабораторной диагностики в определении биологического возраста и разработке программ увеличения продолжительности жизни / А. А. Кишкун // Клиническая лабораторная диагностика. — 2008. — № 9. — С. 4а–5.
86. Кишкун, А. А. Витамин D: от маркера костного и минерального обмена до индикатора общего состояния здоровья / А. А. Кишкун, С. Л. Арсенин // Клиническая лабораторная диагностика. — 2011. — № 10. — С. 38b.
87. Клебанов, Г. И. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов / Г. И. Клебанов // Лабораторное дело. — 1988. — № 5. — С. 59–62.
88. Коваленко, В. Н. Воспаление и оксидативный стресс в кардиоваскулярной патологии / В. Н. Коваленко, Т. В. Талаева, В. В. Братусь // Журнал НАМН України. — 2012. — № 4. — С. 461.

89. Козак, М. В. Возрастные изменения осмотической резистентности эритроцитов / М. В. Козак // Вестник Нижегородского университета. — 2010. — № 2. — С. 648.
90. Козак, М. В. Особенности функционирования гипоталамо-гипофизарно-репродуктивной системы на этапах онтогенеза и в условиях применения геропротекторов: автореф. дис. ... д-ра. биол. наук / Михаил Владимирович Козак. — Астрахань, 2010. — 37 с.
91. Колесников, С. И. Окислительный стресс как патогенетическое звено острого отравления этанолом и его коррекция хелатным соединением цинка / С. И. Колесников, А. В. Машанов, Б. Я. Власов и др. // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. — 2012. — Т. 83, № 1. — С. 115–119.
92. Колесникова, Л. И. Антиоксидантный потенциал крови у мужчин с обструктивными нарушениями дыхания во время сна / Л. И. Колесникова, И. М. Мадаева, Н. В. Семенова, Б. Я. Власов // Бюлл. эксперимент. биологии и медицины. — 2012. — № 12. — С. 695.
93. Динамика структурно-функциональных изменений митохондрий гепатоцитов преждевременно стареющих крыс линии ОХYS / Н. Г. Колосова, С. В. Айдагулова, Г. И. Непомнящих, и др. // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 2001. — Т. 132, № 8. — С. 235–240.
94. Кольтвер, В. К. Свободные радикалы, антиоксиданты и старение: от химии к системной теории надежности / В. К. Кольтвер // Ускоренное старение: механизмы, диагностика, профилактика: тезисы Межд. научно-практ. конф. — Киев, 2012. — С. 26.
95. Кольтовер, В. К. Свободнорадикальная теория старения: исторический очерк. / В. К. Кольтовер // Усп. геронт. — 2000. — № 4. — С. 33–40.
96. Коркина, Л. Г. Сравнительная характеристика оксидативного стресса при некоторых наследственных заболеваниях, отличающихся предрасположенностью к злокачественным новообразованиям и раннему старению / Л. Г. Коркина, П. Е. Трахтман, Дж. Пагано // Вестн. Рос. АМН. — 1998. — № 7. — С. 51.
97. Коркушко, О. В. Возрастные изменения реологических свойств крови и состояния эндотелиальной функции микроциркулятор-

- ного сосудистого русла / О. В. Коркушко, Г. В. Дужак // Пробл. старения и долголетия. — 2011. — Т. 20, № 1. — С. 35–52.
98. Коркушко, О. В. Значение изменения отдельных показателей внутрисосудистого гомеостаза в развитии циркуляторной гипоксии при старении / О. В. Коркушко., В. Ю. Лишневская. // Усп. геронт. — 2002. — № 9. — С. 78–80.
99. Пептидные препараты тимуса и эпифиза в профилактике ускоренного старения / О. В. Коркушко, В. Х. Хавинсон, Г. М. Бутенко, и др. — СПб.: Наука, 2002. — 202 с.
100. Коркушко, О. В. Резервные возможности основных функций сердечно-сосудистой системы при старении (обзор литературы и собственных исследований) / О. В. Коркушко, Ю. Т. Ярошенко // Биология старения. Пробл. старения и долголетия. — 2012. — Т. 21, № 2. — С. 119.
101. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова и др. // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–19.
102. Кост, Е. А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования / Е. А. Кост. — М.: Медицина, 1975. — 360 с.
103. Костюк, В. А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Ж. В. Ковалева // Вопр. мед. химии. — 1990. — № 2. — С. 88–91.
104. Методы статистической обработки медицинских данных: методич. реком. для ординаторов и аспирантов медиц. уч. заведений, науч. работников / А. Г. Кочетов, О. В. Лянг, В. П. Масенко и др. — М.: РКНПК. — 2012. — 320 с.
105. Кравченко, Н. А. Регуляция экспрессии эндотелиальной NO-синтазы и дисфункция сосудистого эндотелия при сердечно-сосудистой патологии / Н. А. Кравченко, Н. В. Ярмыш // Цитология и генетика. — 2008. — № 4. — С. 69–79.
106. Кротенко, Н. В. Нарушение биохимических показателей периферической крови у пациентов с рассеянным склерозом / Н. В. Кротенко, В. М. Алифирова, С. А. Иванова // Бюлл. сибирской медицины. — 2008. — Прил. 1. — С. 238.

107. Показатели окислительного стресса и эндогенной интоксикации в периферической крови у больных с экзогенно-органическими расстройствами в динамике фармакотерапии / Н. М. Кротенко, А. С. Бойко, Е. М. Епанчинцева и др. // Бюлл. сибирской мед. — 2012. — № 1. — С. 178–185.
108. Эффекты трансфер-фактора на биомаркеры старения в эксперименте и клинике / В. Н. Крутько, М. А. Гаврилов, В. И. Донцов, И. В. Мальцева // Вестник восстановительной медицины. — 2012. — № 3. — С. 53–60.
109. Роль окислительного стресса в прогрессировании атеросклероза у больных ишемической болезнью сердца в сочетании с хронической обструктивной болезнью легких / А. Н. Кузнецов, Н. Ю. Григорьева, Е. Г. Шарабрин, и др. // Клиническая медицина. — 2011. — № 2. — С. 69–73.
110. Стресс и нейроэндокринная система: современные морфофункциональные аспекты / С. Л. Кузнецов, М. Ю. Капитонова, Ю. В. Дегтярь, В. Л. Загребин // Вестник ВГМУ. — 2008. — № 2. — С. 10–15.
111. Микросомальное окисление в физиологических и патологических процессах / Э. Э. Кузнецова, В. Г. Горохова, А. С. Сергеева и др. // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. — 2007. — Т. 56, № 4. — С. 170.
112. Кузьменко, В. В., Доброкачественная гиперплазия предстательной железы / В. В. Кузьменко, М. В. Кочетов, Б. В. Семенов. — Воронеж: ВГУ, 2008. — 105 с.
113. Кулигин, А. В. Изменения процессов перекисного окисления липидов у больных в коматозном состоянии / А. В. Кулигин, И. Г. Жданов // Вестник Вол. ГМУ. — 2005. — № 2. — С. 59.
114. Куликов, В. Ю. Роль окислительного стресса в регуляции метаболической активности внеклеточного матрикса соединительной ткани / В. Ю. Куликов // Медицина и образование в Сибири. — 2009. — № 4. — С. 5–22.
115. Купреева, М. С. Оценка состояния красной крови при желчном перитоните / М. С. Купреева, Э. А. Петросян, А. А. Сухинин, О. А. Терещенко // Бюлл. Волгоградского науч. центра РАМН. — 2008. — № 2. — С. 49.

116. Кургушев, А. Ю. Характер вегетативных и гормонально-метаболических изменений / А. Ю. Кургушев, А. В. Лопатин, Е. В. Неудахин // Вестник новых медицинских технологий. — 2012. — № 1. — С. 20–23.
117. Кучин, А. В. Антиоксиданты: химия и применение / А. В. Кучин, И. Ю. Чукчиева // Вестник уральского отделения РАН. — 2011. — № 3. — С. 43.
118. Ланкин, В. З. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях / В. З. Ланкин, А. К. Тизазе, Ю. Н. Беленков. — М., 2001. — 78 с.
119. Ланкин, В. З. Ферментативное перекисное окисление липидов / В. З. Ланкин // Укр. биохим. журн. — 1984. — Т. 56, № 3. — С. 317.
120. Лишманов, Ю. Б. Опиоидные нейропептиды, стресс и адаптационная защита сердца / Ю. Б. Лишманов, П. Н. Маслов. — Томск: Изд-во Томского ун-та. — 1994. — 354 с.
121. Лобанок, Л. М. Гормоны и старение: регуляция сократительной функции сердца / М. Л. Лобанок. — Минск: Наука и техника, 1994. — 200 с.
122. Ловцова, Л. В. Органотропность изменений показателей перекисного окисления липидов при введении препаратов двухвалентного железа в эксперименте / Л. В. Ловцова, Т. О. Чуева, А. В. Дворников // Современные технологии в медицине. — 2011. — № 1. — С. 15.
123. Влияние аторвастатина на липиды сыворотки крови мышей при экспериментальной липемии / В. М. Логинова, Ф. В. Тузиков, Н. А. Тузикова и др. // Бюллетень СО РАМН. — 2011. — № 2. — С. 133.
124. Лукаш, В. А. Возрастные особенности пероксидного окисления липидов в субклеточных фракциях гепатоцитов при регенерации печени в условиях стресса: дис. ... канд. биол. наук / Вячеслав Александрович Лукаш. — Екатеринбург, 2008. — 133 с.
125. Эндотелий. Функция и дисфункция / З. А. Лупинская, А. Г. Зарифьян, Т. Ц. Гурович и др. — Бишкек: КРСУ, 2008. — 373 с.

126. Мажитова, М. В. Возрастные и половые особенности свободнорадикальных процессов и антиоксидантной защиты плазмы крови белых крыс / М. В. Мажитова, Д. Д. Теплый // Естественные науки. — 2010. — № 1. — С. 79.
127. Мальцев, Г. Ю. Методы определения содержания глутатиона и активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / Г. Ю. Мальцев, Н. В. Тышко // Гигиена и санитария. — 2002. — № 2. — С. 69–72.
128. Мамылина, Н. В. Адаптационно-компенсаторные реакции в системе эритрон при экспериментальном эмоционально-болевом стрессе: автореф. дис. ... д-ра. биол. наук / Наталья Владимировна Мамылина. — Челябинск, 2012. — 45 с.
129. Взаимосвязь процессов эритропоэза, эритродиереза и перекисного окисления липидов мембран эритроцитов / А. Г. Марачев, Г. Н. Корнев, Г. Н. Дегтева и др. // Вестн. АМН СССР. — 1983. — № 11. — С. 65.
130. Меерсон, Ф. З. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Ф. З. Меерсон, М. Г. Пшенникова. — М.: Медицина, 1988. — 286 с.
131. Меерсон, Ф. З. Адаптация, стресс и профилактика / Ф. З. Меерсон. — М.: Наука, 1981. — 278 с.
132. Меерсон, Ф. З. Роль цитоплазматических факторов в постстрессовых изменениях синтеза РНК в сердце и печени / Ф. З. Меерсон, М. П. Явич // Вопросы медицинской химии. — 1987. — № 2. — С. 90–96.
133. Меерсон, Ф. З. Сравнительная оценка антиаритмической эффективности антиоксиданта ионола (дibuнола) при аритмогенной форме нейроциркуляторной дистонии и стабильной стенокардии напряжения / Ф. З. Меерсон, И. М. Корочкин, О. Л. Барабаш // Советская медицина. — 1990. — № 3. — С. 67–70.
134. Меньшиков, В. В. Лабораторные методы исследования в клинике / В. В. Меньшиков. — М.: Медицина. — 1987. — 368 с.
135. Меркулов, Г. А. Курс патогистологической техники // Г. А. Меркулов. — М.: Медицина. — 1969. — 424 с.
136. Вклад клеточно-ориентированных и биохимических механизмов в процессы геропротекции у пациентов с полиморбидной патологией / В. Н. Мещанинов, Е. Л. Ткаченко,

- И. В. Гаврилов и др. // Аллергология и иммунология. — 2016. — Т. 17, № 1. — С. 83–86.
137. Мещанинов, В. Н. Влияние L-аргинина на биологический возраст и ПОЛ у пациентов зрелого возраста с полиорганной патологией / В. Н. Мещанинов, И. В. Вечкаева, А. П. Ястребов // Госпитальный вестник. — 2008. — № 1–2. — С. 24.
138. Мещанинов, В. Н. Влияние нейромедиаторов на перекисное окисление липидов при иммобилизационном стресс-воздействии у крыс разного возраста / В. Н. Мещанинов, Д. Л. Щербаков // Казанский медицинский журнал. — 2015. — Т. 96, № 5. — С. 843–849.
139. Мещанинов, В. Н. Влияние синтетических пептидов на темпы старения пациентов с хроническими полиморбидными и психоорганическими нарушениями центральной нервной системы в стадии ремиссии / В. Н. Мещанинов, Е. Л. Ткаченко, С. В. Жарков и др. // Успехи геронтологии. — 2015. — Т. 28, № 1. — С. 62–67.
140. Использование олигопептидов в клеточно-ориентированных технологиях превентивной гериатрии / В. Н. Мещанинов, В. Х. Хавинсон, Е. Л. Ткаченко и др. // Вестник уральской медицинской академической науки. — 2015. — Т. 55, № 4. — С. 116–122.
141. Медицинские диагностические и лечебные клеточно-метаболические технологии в превентивной геронтологии и гериатрии — итоги работы за 10 лет / В. Н. Мещанинов, Е. Л. Ткаченко, Д. Л. Щербаков и др. // Вестник уральской медицинской академической науки. — 2016. — № 4. — С. 76–86.
142. Мещанинов, В. Н. Состояние перекисного окисления липидов системы крови в процессах возрастной инволюции организма и в условиях воздействия экстремальных факторов: дис. ... д-ра мед. наук / Виктор Николаевич Мещанинов. — Екатеринбург, 1999. — 286 с.
143. Мещанинов, В. Н. Сравнительная эффективность геропротективных методов для пациентов с полиморбидной патологией / В. Н. Мещанинов // Тюменский медицинский журнал. — 2014. — Т. 16, № 2. — С. 24.

144. Минвалеев, Р.С. Сравнение скорости изменения липидного профиля сыворотки крови человека при подъеме на высоту среднегорья / Р.С. Минвалеев // Физиология человека. — 2011. — № 3. — С. 103.
145. Мирошниченко, Т.И. Метаболизм эритроцитов при различной степени тяжести гестоза [Электронный ресурс] / Т.И. Мирошниченко, А.А. Конопля, Н.С. Воронцова // Вестник новых медицинских технологий. — 2013. — № 1. Режим доступа: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2013-1/4097.pdf>
146. Пролиферативный эффект мет-энкефалина и тонкая кишка / Г.М. Могильная, В.И. Дурецкий, А.А. Евглевский, и др. // Российский журнал гастроэнтерологии. — 2005. — Т. 17, № 5, прил. 30. — С. 129.
147. Подавление силимарином пролиферации Т-лимфоцитов и образования цитокинов in vitro при гепатите С / Ч. Моришима, М.С. Шухарт, Ч.С. Ванг и др. // Клиническая гастроэнтерология и гепатология: рус. изд. — 2011. — Т. 4, № 1. — С. 12–22.
148. Москалев, А.А. Роль генов транскрипционного фактора dFOXO, dSIR2 и HSP70 в изменении продолжительности жизни drosophila melanogaster при различных режимах освещения / А.А. Москалев, О.А. Малышева // Экологическая генетика. — 2010. — Т. 8, № 3. — С. 67.
149. Москалев, А.А. Старение и гены / А.А. Москалев. — СПб.: Наука, 2008. — 358 с.
150. Мохорт, Т.В. Альфа-липоевая кислота: полифакторное влияние и обоснование возможностей использования при сахарном диабете / Т.В. Мохорт // Медицинские новости. — 2011. — № 3. — С. 67–69.
151. Мякотных, В.С. Стресс и возраст / В.С. Мякотных, М.Н. Торгашов, Т.А. Боровкова. — Екатеринбург: УГМУ, 2016. — 320 с.
152. Мякотных, В.С. Стресс-индуцированные расстройства / В.С. Мякотных, М.Н. Торгашов. — Екатеринбург: Мой диск, 2015. — 216 с.
153. Нагорнев, С.Н. Фармакологическая коррекция процесса липопероксидации при гипоксии и возможность повышения высотной

- устойчивости человека с помощью препаратов метаболического типа действия / С. Н. Нагорнев, С. И. Сытник, И. П. Боровицкий // Вестн. Рос. АМН. — 1996. — № 7. — С. 53–60.
154. Назарян, Н. С. Субклеточные нитритэргические механизмы отделов кортиколимбической системы головного мозга, крови и костного мозга при индуцированной хроническим стрессом и депрессии: дис. ... канд. биол. наук / Нарине Самвеловна Назарян. — Ереван, 2011. — 149 с.
155. Нгуен, Т. Ч. Исследование структурного состояния мембран эритроцитов больных ишемической болезнью сердца старших возрастов / Т. Ч. Нгуен // Фундаментальные исследования. Медицинские науки. — 2012. — № 2. — С. 97.
156. Немченко, Н. С. Биохимические механизмы патогенеза тяжелой сочетанной травмы / Н. С. Немченко // Клиническая медицина и патофизиология. — 1997. — № 2. — С. 85–92.
157. Несов, А. В. Активные формы кислорода в гибели клеток растений: роль митохондрий, NADPH-оксидазы плазматической мембраны и апопластной пероксидазы: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Артем Владимирович Несов. — М., 2013. — 24 с.
158. Стресс-реактивность разновозрастных беспородных белых крыс на модели острого эмоционально-болевого стресса / Ю. В. Нестеров, Д. Л. Теплый, Ю. В. Алтуфьев, и др. // Естественные науки. — 2012. — № 1. — С. 156.
159. Николаева-Балл, Д. Р. Состояние адаптационных механизмов у женщин с метаболическим синдромом и гестозом в III триместре беременности / Д. Р. Николаева-Балл, Н. И. Кан // Фармакология. — 2012. — Т. 13. — С. 803.
160. Никонов, В. В. Медицина неотложных состояний. Избранные клинические лекции / В. В. Никонов, А. Э. Феськов. — Донецк: Заславский А. Ю., 2008. — 504 с.
161. Обухова, Л. К. Антиоксиданты и геропротекторы: идентичны ли эти понятия? / Л. К. Обухова // Клиническая геронтология. — 2002. — Т. 8, № 5. — С. 186.
162. Исследование окислительной модификации белков и липидов при экспериментальном синдроме болезни Паркинсона /

- Л. М. Овсепян, Г. С. Казарян, М. В. Львов и др. // Биологический журнал Армении. — 2012. — Т. 64, № 2. — С. 80.
163. Овсепян, Л. М. Исследования перекисного окисления белков и липидов при острой гипоксии / Л. М. Овсепян, Г. В. Захарян, Г. С. Газарян // Биологический журнал Армении. — 2010. — № 3. — С. 42.
164. Антиоксидантный и мембраностабилизирующий эффект таурина / М. А. Огай, Э. Ф. Степанова, Д. Б. Холодов, В. А. Николаевский // Вестник Воронежского ГУ, Серия: «Химия. Биология. Фармация». — 2011. — № 1. — С. 186.
165. Орехов, А. Н. Атеросклероз. Молекулярно-клеточные механизмы атерогенеза человека; атеросклеротические механизмы / А. Н. Орехов. — Saarbrücken, Германия: Palmarium Academic Publishing, 2013. — 544 с.
166. Оробец, В. А. Стресс и его коррекция у животных: уч. пособие / В. А. Оробец, И. И. Некрасова, О. Г. Сапожникова. — Ставрополь: Ставропольский ГАУ. — 2010. — 52 с.
167. Осипов, А. Н. Медицинская биофизика: роль кафедры общей и медицинской биофизики в ее становлении и развитии / А. Н. Осипов, Ю. А. Владимиров, Ю. О. Теселкин. // Вестник РГМУ. — 2012. — № 4. — С. 5.
168. Павлов, А. С. Стратегии терморегулирования при различных видах стресса / А. С. Павлов. — Донецк: Донбасс, 2011. — 112 с.
169. Падалко, В. И. Влияние 2,4-динитрофенола на интенсивность окислительных процессов в печени крыс в длительном эксперименте / В. И. Падалко, И. С. Леонова, Е. В. Козлова // Успехи геронтологии. — 2010. — Т. 23, № 1. — С. 98–103.
170. Перцов, С. С. Интенсивность окислительных и антиоксидантных процессов в головном мозге крыс с разными параметрами поведения при острой стрессорной нагрузке / С. С. Перцов, Е. В. Коплик, Л. С. Калиниченко // Бюлл. экспер. биол. мед. — 2011. — Т. 152, № 7. — С. 4–8.
171. Пикалова, Л. В. Генопротективные эффекты мелатонина при химических и радиационных воздействиях: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Лидия Васильевна Пикалова. — СПб., 2012. — 23 с.

172. Подгорнова, Н. А. Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы защиты как прогностический критерий тяжести течения климактерического синдрома / Н. А. Подгорнова, Г. О. Гречканев // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2010. — № 2. — С. 13.
173. Подковкин, В. Г. Изменение показателей обмена коллагена при эмоциональном стрессе / В. Г. Подковкин, Д. Г. Иванов // Вестник ОГУ. — 2010. — Т. 108, № 2. — С. 124–128.
174. Подрядина, Г. В. Стресс и патология / Г. В. Подрядина. — Москва: РГМУ, 2009. — 24 с.
175. Прайор, У. Роль свободнорадикальных реакций в биологических системах / У. Прайор // Свободные радикалы в биологии. — М.: Мир, 1979. — Т. 1. — С. 13
176. Пристом, А. М. Оксидативный стресс и сердечно-сосудистые заболевания / А. М. Пристом, М. Бенхамед // Лечеб. дело. — 2012. — Т. 24, № 2. — С. 19–23.
177. Пупышев, А. Б. Пермеабилзация лизосомальных мембран как апоаптогенный фактор / А. Б. Пупышев // Цитология. — 2011. — Т. 53, № 4. — С. 295–312.
178. Путилина, М. В. Дисфункция эндотелия и применение антиоксидантов при цереброваскулярных заболеваниях / М. В. Путилина // Неврология. — 2010. — № 1. — С. 15–17.
179. Генетическая гетерогенность синтеза белков теплового шока как фактор, определяющий устойчивость организма млекопитающих к действию стрессовых агентов // А. Л. Пухальский, Г. В. Шамарина, И. В. Капустин и др. // Цитология. — 2010. — Т. 52, № 12. — С. 1016–1023.
180. Пушкарёва, М. Ю. Изучение уровня активности сфингомиелиназы и содержания сфингомиелина и церамидов в сравнении с другими фракциями липидов клеточного ядра регенерирующей печени крыс / М. Ю. Пушкарёва, О. В. Боровкова, А. В. Алесенко // Биохимия. — 1991. — № 5. — С. 903–910.
181. Реброва, Т. Ю. Особенности системы антиоксидантов при постинфарктном ремоделировании миокарда у животных разного возраста / Т. Ю. Реброва, О. Д. Путрова, С. А. Афанасьев // Естественные науки. — 2012. — Т. 38, № 1. — С. 197–200.

182. Романова, Л. А., Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоцианата аммония / Л. А. Романова, И. Д. Стальная // Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 65–66.
183. Романова, Ю. А. Пролиферативная система и клеточный гомеостаз тканей. Сравнительные особенности изучения регенерации и клеточной пролиферации / Ю. А. Романова, А. И. Антохин. — М.: Наука. — 1983. — 251 с.
184. Рудаков, А. Л. Стресс, стрессоустойчивость и саногенная рефлексия в спорте: монография / А. Л. Рудаков. — Красноярск, 2011. — 190 с.
185. Рутковская, Ж. А. Влияние гипероксии на состояние антиоксидантной системы эритроцитов у новорожденных морских свинок / Ж. А. Рутковская, И. Л. Котович, А. Д. Таганович // Весті НАНБ, сер. мед. Навук. — 2011. — № 3. — С. 50.
186. Рушкевич, Ю. Е. Повреждение эмоциогенных зон гипоталамуса и продолжительность жизни крыс / Ю. Е. Рушкевич, Т. А. Дубилей // Пробл. старения и долголетия. — 2009. — Т. 18, № 4. — С. 381–392.
187. Саакян, И. Р. Активация и ингибирование сукцинат-зависимого транспорта Ca^{2+} в митохондриях печени при развитии адаптационных реакций / И. Р. Саакян, С. Г. Саакян, М. Н. Кондрашова // Биохимия. — 2001. — Т. 66, № 7. — С. 976–984.
188. Садовникова, И. П. Изменение иммунного ответа при старении и влияние на него геропротекторов-антиоксидантов / И. П. Садовникова // Различные аспекты биологических систем: докл. МОИП. — 1986. — С. 53–56.
189. Саидов, М. Б. Структурно-динамические параметры мембран эритроцитов при гипотермии и введении даларгина / М. Б. Саидов, Р. А. Халилов // Успехи совр. естествознания. — 2013. — № 11. — С. 73–75.
190. Самсонова, Е. Н. Реакция клеток костного мозга крыс при действии общей гипертермии / Е. Н. Самсонова, Н. В. Долотина, О. Н. Логачева // Бюлл. СО РАМН. — 2011. — Т. 31, № 1. — С. 40–45.

191. Селье, Г. Стресс без дистресса / Г. Селье. — М.: Прогресс, 1982. — 68 с.
192. Семенков, В. Ф. Стресс и старение человека / В. Ф. Семенков, В. И. Карандашов, Т. А. Михайлова // Вестник РАЕН. — 2011. — № 4. — С. 72.
193. Серкиз, Я. И. Хемилюминесценция крови в экспериментальной и клинической онкологии / Я. И. Серкиз, Е. Е. Чеботарев, В. А. Барабой. — Киев: Наукова думка, 1984. — 184 с.
194. Сиверина, О. Б. Метод количественного определения церулоплазмينا / О. Б. Сиверина, В. В. Басевич, Р. В. Басова // Лаб. дело. — 1986. — № 10. — С. 618–621.
195. Сидорова, В. Ф. Возраст и восстановительная способность органов у млекопитающих / В. Ф. Сидорова. — М.: Медицина, 1976. — 200 с.
196. Клеточные модели для поиска веществ, способствующих обратному транспорту холестерина / И. А. Собенин, А. Н. Орехов, В. А. Орехова и др. // Биомедицинский журнал. — 2011. — № 12. — С. 1134
197. Солодовников, О. Н. Кислородный «взрыв» нейтрофильных лейкоцитов в патогенезе воспалительной реакции при гнойных инфекциях у детей / О. Н. Солодовникова, В. П. Молочный // Дальневосточный медицинский журнал. — 2012. — № 1. — С. 118.
198. Стальная, И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных кислот / И. Д. Стальная // Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 63–64.
199. Стальная, И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. — М., 1977. — С. 66–68.
200. Стрекалова, Т. В. Депрессивноподобные состояния и сон у лабораторных мышей / Т. В. Стрекалова, Р. Сеспульо, В. М. Ковальзон // Журн. высш. нервн. деятелън. — 2008. — Т. 58, № 6. — С. 728–733.

201. Судаков, К. В. Системные механизмы саморегуляции здоровья / К. В. Судаков // Вестник Международной академии наук. Русская секция. — 2012. — № 2. — С. 13.
202. Судаков, К. В. Системные основы эмоционального стресса / К. В. Судаков, П. Е. Умрюхин. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 103 с.
203. Биологическая роль свободных радикалов в развитии патологических состояний / А. О. Сыровая, Ф. С. Леонтьева, И. В. Новикова и др. // Международный медицинский журнал. — 2012. — № 3. — С. 98.
204. Тагашева, Р. Г. Производные индола с пространственно затрудненными фенольными фрагментами: синтез, строение, свойства: автореф. дис. ... канд. хим. наук / Роза Геннадьевна Тагашева. — Казань, 2009. — 19 с.
205. Роль структуры мембран в активации митохондриальных фосфолипаз / Э. Таджибаева, О. Н. Вагина, М. В. Замаева и др. // Биологические мембраны. — 1999. — Т. 16, № 1. — С. 57–63.
206. Влияние даларгина на свободнорадикальные процессы в крови крыс при умеренной гипотермии / Л. Т. Таджибова, М. Д. Астаева Ж. Г. Исмаилова и др. // Бюл. экспер. биол. и мед. — 2010. — № 9. — С. 271–274.
207. Теплый, Д. Д. Особенности морфологических показателей эритроцитов белых крыс на раннем и позднем этапах онтогенеза / Д. Д. Теплый, Ю. В. Нестеров // Естественные науки. — 2011. — Т. 34, № 1. — С. 138–143.
208. Терешина, Е. В. Метаболические нарушения — основа зависимых от возраста заболеваний или старения организма? Состояние проблемы. / Е. В. Терёшина // Успехи геронтологии. — 2009. — Т. 22, № 1. — С. 129–138.
209. Терешина, Е. В. Роль жирных кислот в развитии возрастного окислительного стресса. Гипотеза / Е. В. Терешина // Успехи геронтологии. — 2007. — № 1. — С. 59.
210. Особенности метаболизма оксида азота в норме и при патологии / В. Ю. Титов, М. В. Крейнина, В. А. Петров и др. // Вестник РГМУ. — 2012. — № 4. — С. 11.

211. Ткаченко, А. Г. Молекулярные механизмы стрессорных ответов у микроорганизмов / А. Г. Ткаченко. — Екатеринбург: УрО РАН, 2012. — 267 с.
212. Тодоров, И. Н. Митохондрии: окислительный стресс и мутации митохондриальной ДНК в развитии патологий, процессе старения и апоптоза / И. Н. Тодоров // Журнал Российского хим. об-ва им. Д. И. Менделеева. — 2007. — № 1. — С. 93–106.
213. Трухачева, Е. П. Значение никотиновой кислоты в современной кардиологии / Е. П. Трухачева, М. В. Ежов // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. — 2011. — № 7. — С. 365–373.
214. Тужилин, С. А. Метод определения фосфолипазы А в сыворотке крови / С. А. Тужилин, А. И. Салузня // Лаб. дело. — 1975. — № 6. — С. 334–335.
215. Тукаев, Р. Д. Триггерные механизмы биологического и психического стресса в соотношении с диатез-стрессовыми моделями психиатрии / Р. Д. Тукаев // Социальная и клиническая психиатрия. — 2012. — Т. 22, № 2. — С. 69–77.
216. Органы — маркеры стресса и кортикостерон в крови после иммобилизации у поведенчески активных и пассивных крыс на фоне иммунизации конъюгатом глутамата с бычьим сывороточным альбумином / А. Е. Умрюхин, С. В. Сотников, Н. Ю. Чекмарева и др. // Бюлл. экспериментальной биологии и медицины. — 2014. — Т. 158, № 6. — С. 420–427.
217. Ресурсы организма. Новый подход к выявлению причин возникновения заболеваний и методам их лечения / В. А. Федоров и др. — СПб.: СпецЛит, 2012. — 63 с.
218. Филиппова, Г. Г. Роль простаноидов в регуляции физиологических процессов в растениях / Г. Г. Филиппова, Е. М. Лапковская, В. М. Юрин // Труды БГУ. — 2011. — Т. 6, Ч. 2. — С. 59–64.
219. Фролькис, В. В. Старение и увеличение продолжительности жизни / В. В. Фролькис. — Л: Наука, 1988. — 239 с.
220. Фролькис, В. В. Старение мозга / В. В. Фролькис. — Л.: Наука, 1991. — 277 с.
221. Фролькис, В. В. Старение, эволюция и продление жизни / В. В. Фролькис, Х. К. Мурадян. — Киев: Наукова Думка, 1992. — 336 с.

222. Хавинсон, В. Х. Регуляторные пептиды и гомеостаз / В. Х. Хавинсон, Т. В. Кветная // Журнал Российского хим. об-ва им. Д. И. Менделеева. — 2005. — Т. 49, № 1. — С. 112–117.
223. Хазанов, В. А. Возрастные особенности гепатопротекторного действия митохондриальных субстратов при стрессе и интоксикации / В. А. Хазанов, К. Ю. Васильев // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 2005. — № 6. — С. 54–60.
224. Хидирова, Л. Д. Изменение баланса между активностью перекисного окисления липидов, антиокислительной защитой и содержанием железа у крыс при экспериментальном инфаркте миокарда / Л. Д. Хидирова // Экспериментальная фармакология. — 2010. — № 6. — С. 216–227.
225. Экспериментальные модели в патологии / В. А. Черешнев и др. — Пермь: Перм. гос. ун-т, 2011. — 267 с.
226. Чижова, Г. В. Принципы терапии психоэмоциональных проявлений климактерического синдрома в период менопаузы / Г. В. Чижова, Т. П. Цветкова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2011. — № 3. — С. 1.
227. Шадриков, В. Д. Введение в психологию: эмоции и чувства / В. Д. Шадриков. — М.: ЛОГОС, 2002. — 156 с.
228. Шарман, А. Научные основы качественного долголетия и антистарения / А. Шарман, Ж. Жумадилов. — Нью-Йорк: Mary Ann Liebert, Inc., 2011. — 184 с.
229. Швалев, В. Н. Морфологическая и функциональная трансформация симпатoadреналовой системы при старении как фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний / В. Н. Швалев, Н. А. Тарский // Вестник Рос. акад. естественных наук. — 2005. — Т. 5, № 1. — С. 48–54.
230. Швец, В. Н. Возрастные особенности накопления карбонилированных белков в субклеточных фракциях миокарда при иммобилизационном стрессе / В. Н. Швец // Ученые записки Таврического нац. университета им. В. И. Вернадского. — 2008. — Серия «Биология, химия». — Т. 21, № 1. — С. 169.
231. Шишкин, А. Н. Гериатрия: уч. пособие для студ. проф. уч. заведений / А. Н. Шишкин, Н. Н. Петрова, Л. А. Слепых. — М.: Академия, 2008. — 192 с.

232. Щербаков, Д. Л. Антиоксидантное действие триптофана и никотиновой кислоты в головном мозгу крыс разного возраста при иммобилизационном стресс-воздействии / Д. Л. Щербаков, В. В. Емельянов, В. Н. Мещанинов // Успехи геронтологии. — 2014. — Т. 27, № 4. — С. 730–736.
233. Щербаков, Д. Л. Влияние олигопептида на изменения интенсивности перекисного окисления липидов и антиокислительной активности при иммобилизационном стресс-воздействии в периферической крови крыс разного возраста / Д. Л., Щербаков В. Н., Мещанинов С. В. Жарков // Вестник уральской мед. академ. науки. — 2014. — № 5. — С. 110–115.
234. Щербаков, Д. Л. Влияние сочетания триптофана и никотиновой кислоты на перекисное окисление липидов в системе крови у крыс разного возраста в норме и при ускоренном старении / Д. Л. Щербаков, В. Н. Мещанинов // Вестник уральской мед. академ. науки. — 2007. — № 4. — С. 82–85.
235. Щербаков, Д. Л. Возрастные особенности влияния триптофана и никотиновой кислоты на перекисное окисление липидов и антиокислительную активность клеток и плазмы крови при стресс-воздействии / Д. Л. Щербаков, В. Н. Мещанинов // Вятский медицинский вестник. — 2007. — № 4. — С. 171–172.
236. Щербаков, Д. Л. Особенности влияния адреналина на перекисное окисление липидов в миелокариоцитах зрелых и старых крыс *in vitro* / Д. Л. Щербаков, В. В. Емельянов, В. Н. Мещанинов // Вестник уральской мед. академ. науки. — 2013. — Т. 46, № 4. — С. 102–105.
237. Изменения липидного обмена у крыс разного возраста при стрессе и их коррекция смесью триптофана и никотиновой кислоты / Д. Л. Щербаков, В. В. Емельянов, В. Н. Мещанинов и др. // Геронтология и гериатрия. — 2001. — № 1. — С. 236–238.
238. Эмануэль, Н. М. Антиоксиданты и увеличение продолжительности жизни / Н. М. Эмануэль // Физиол. журнал. — 1984. — Т. 30, № 1. — С. 1–8.
239. Эмирбеков, Э. З. Влияние многократного холодового стресса на интенсивность перекисного окисления липидов и антиокислительную систему тканей / Э. З. Эмирбеков, С. П. Львова,

- А. Г. Гасангаджиева // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. — 1998. — Т. 125, № 4. — С. 385–387.
240. Влияние митохондриального антиоксиданта SkQ1 на старение, продолжительность жизни и спонтанный канцерогенез у мышей трех линий / М. Н. Юрова, М. А. Забежинский, Т. С. Пискунова, и др. // Успехи геронтологии. — 2010. — Т. 23, № 3. — С. 430–441.
241. Юшков, Б. Г. Понятие нормы в физиологии (физиологические константы лабораторных животных) / Б. Г. Юшков, В. А. Черешнев. — М.: Центр стратегического партнерства, 2016. — 614 с.
242. Юшков, Б. Г. Система крови и экстремальные воздействия на организм / Б. Г. Юшков, В. Г. Климин, М. В. Северин. — Екатеринбург: УрО РАН, 1999. — 201 с.
243. Юшков, Б. Г. Сосуды костного мозга и регуляция кроветворения: монография // Б. Г. Юшков, В. Г. Климин, А. И. Кузьмин. — Екатеринбург: УрО РАН, 2004. — 148 с.
244. Ярыгин, В. Н. Анализ взаимодействия центральных и периферических норадренергических структур в онтогенезе крыс / В. Н. Ярыгин, Л. В. Бибаева, И. Е. Малинина // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 1997. — Т. 124, № 11. — С. 579–582.
245. Ястребов, А. П. Коррекция регенерации миелоидной ткани после острой кровопотери у старых экспериментальных животных / А. П. Ястребов, Д. Ю. Гребнев, И. Ю. Маклакова // Вестник уральской мед. академ. науки. — 2011. — № 4. — С. 103–105.
246. Ястребов, А. П. Старение, перекисное окисление липидов и биовозраст / А. П. Ястребов, В. Н. Мещанинов. — Екатеринбург: Урал. следопыт, 2005. — 220 с.
247. Яхно, Т. А. Агрегатное состояние и кооперативные реакции компонентов цельной крови в норме и патологии: дис. ... д-ра. биол. наук / Татьяна Анатольевна Яхно. — Нижний Новгород, 2011. — 317 с.
248. Abdelmegeed, M. A. Cytochrome P450-2E1 promotes aging-related hepatic steatosis, apoptosis and fibrosis through increased nitroxidative stress / M. A. Abdelmegeed, Y. Choi, S. K. Ha et al. // Free Radic. Biol. Med. — 2015. — Vol. 91. — P. 188–202.

249. Ahmad, A. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of l-arginine and nabs: a comparative in vitro study / A. Ahmad, M.Z. Sattar, H.A. Rathore et al. // Acta. Pol. Pharm.— 2015.— Vol. 72, № 2.— P. 245–252.
250. Ahmad, A. Restraint stress-induced central monoaminergic & oxidative changes in rats & their prevention by novel *Ocimum sanctum* compounds / A. Ahmad, N. Rasheed, K. Chand et al. // Indian J. Med. Res.— 2012.— Vol. 135, № 4.— P. 548–554.
251. Albi, E. Nuclear lipid microdomain as place of interaction between sphingomyelin and DNA during liver regeneration / E. Albi, A. Lazzarini, R. Lazzarini et al. // Int. J. Mol. Sci.— 2013.— Vol. 14, № 4.— P. 6529–6541.
252. Role of type I & type II reactions in DNA damage and activation of caspase 3 via mitochondrial pathway induced by photosensitized benzophenone / S.K. Amar, S. Goyal, S.F. Mujtaba et al. // Toxicol Lett.— 2015.— Vol. 235, № 2.— P. 84–95.
253. Amireault, P. Serotonin is a key factor for mouse red blood cell survival / P. Amireault, E. Bayard, J.M. Launay // PLoS One.— 2013.— Vol. 8, № 12.— P. e83010.
254. Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes / H.R. Andersen, J.B. Nielsen, F. Nielsen et al. // Clin. Chem.— 1997.— Vol. 43, № 4.— P. 562–568.
255. Anderson, E.J. Mitochondria as a source and target of lipid peroxidation products in healthy and diseased heart / E.J. Anderson, L.A. Katunga, M.S. Willis // Clin. Exp. Pharmacol Physiol.— 2012.— Vol. 39, № 2.— P. 56–71.
256. Ando, K. Evidence for accumulation of lipid hydroperoxides during the aging of human red blood cells in the circulation / K. Ando, M. Beppu, K. Kikugava // Biol. Pharm. Bull.— 1995.— Vol. 18, № 5.— P. 659–663.
257. Andrade Pires, A.D. Antioxidant effect of 1,3,4-thiadiazolium mesoionic derivatives on isolated mitochondria / A.D. Andrade Pires, G. Jabor Gozzi, G. Rodrigues Noleto et al. // Eur. J. Pharmacol.— 2015.— Vol. 770.— P. 78–84.

258. Aon, M.A. Sequential opening of mitochondrial ion channels as a function of glutathione redox thiol status / M.A. Aon, S. Cortassa, C. Maack et al. // *J. Biol. Chem.*— 2007.— Vol. 30.— P. 889–900.
259. Arakawa, M. N-acetylcysteine and neurodegenerative diseases: basic and clinical pharmacology / M. Arakawa, Y. Ito // *Cerebellum*.— 2007.— Vol. 6, № 4.— P. 308–314.
260. Bakeeva, L. E. Age-related changes in ultrastructure of mitochondria. effect of SkQ1 / L. E. Bakeeva // *Biochemistry (Mosc)*.— 2015.— Vol. 80, № 12.— P. 1582–1588.
261. Beta blockade protection of bone marrow following trauma: the role of G-CSF / G.M. Baranski, M.D. Offin, Z.C. Sifri et al. // *J. Surg. Res.*— 2011.— Vol. 170, № 2.— P. 325–331.
262. Mitochondrial hormesis links nutrient restriction to improved metabolism in fat cell / D. L. Barbato, G. Tatulli, K. Aquilano et al. // *Aging (Albany NY)*.— 2015.— Vol. 70, № 10.— P. 869–881.
263. Barrera, G. Mitochondrial dysfunction in cancer and neurodegenerative diseases: spotlight on fatty acid oxidation and lipoperoxidation products / G. Barrera, F. Gentile, S. Pizzimenti et al. // *Antioxidants (Basel)*.— 2016.— Vol. 5, № 1.— pii: E7.
264. Battal, D. Possible role of selective serotonin reuptake inhibitor sertraline on oxidative stress responses / D. Battal, S. Yalin, E. D. Eker // *Eur Rev Med Pharmacol Sci.*— 2014.— Vol. 18, № 4.— P. 477–484.
265. Human SOD2 modification by dopamine quinones affects enzymatic activity by promoting its aggregation: possible implications for Parkinson's disease / E. Belluzzi, M. Bisaglia, E. Lazzarini et al. // *PLoS One*.— 2012.— Vol. 7, № 6.— P. e38026.
266. Blanchet, M. R. Modulation of eosinophil activation in vitro by a nicotinic receptor agonist / M. R. Blanchet, A. Langlois, E. Israel-Assayag et al. // *Journal of leukocyte biology*.— 2007.— Vol. 81.— P. 1245–1251.
267. Blann, A. Blood tests and age-related changes in older people / A. Blann // *Nurs. Times*.— 2014.— Vol. 110, № 7.— P. 22–23.
268. Bleecker, M. L. Carbon monoxide intoxication / M. L. Bleecker // *Handb Clin Neurol*.— 2015.— Vol. 131.— P. 191–203.

269. Bohár, Z. Tryptophan catabolites and migraine / z. bohár, á. párdutz, l. vécsei // *Curr. Pharm Des.*— 2016.— Vol. 22, № 8.— P. 1013–1021.
270. Boman, B. L-tryptophan: a rational anti-depressant and a natural hypnotic? / B. Boman // *Aust. N Z J Psychiatry.*— 1986.— Vol. 22, № 1.— P. 83–97.
271. Two weeks of high-intensity interval training improves novel but not traditional cardiovascular disease risk factors in adolescents / B. Bond, E. J. Cockcroft, C. A. Williams et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*— 2015.— Vol. 309, № 6.— P. 1039–1047.
272. Borovkova, T. A. The final state of lipid peroxidation and antioxidation activity in blood system of elderly patients with cardiovascular pathology / T. A. Borovkova, V. S. Miakotnykh, V. N. Meshchaninov // *Advances in Gerontology.*— 2009.— Vol. 22, № 1.— P. 176–184.
273. Melatonin 4 mg as prophylactic therapy for primary headaches: a pilot study / A. Bougea, N. Spantideas, V. Lyras et al. // *Funct. Neurol.*— 2016.— Vol. 31, № 1.— P. 33–37.
274. Braida, D. Role of neuronal nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) on learning and memory in zebrafish / D. Braida, L. Ponzoni, R. Martucci // *Psychopharmacology (Berl).*— 2014.— Vol. 231, № 9.— P. 1975–1985.
275. A periodic diet that mimics fasting promotes multi-system regeneration, enhanced cognitive performance, and healthspan / S. Brandhorst, I. Y. Choi, M. Wei et al. // *Cell Metab.*— 2015.— Vol. 22, № 1.— P. 86–99.
276. Bremner, J. D. Traumatic stress: effects on the brain / J. D. Bremner // *Dialogues in clinical neuroscience.*— 2006.— Vol. 8, № 4.— P. 28–34.
277. Brezinová, V. Tryptophan and sleep / V. Brezinová, J. Loudon, I. Oswald // *Lancet.*— 1972.— Vol. 7789, № 2.— P. 1086–1087.
278. Mitochondrial anomalies: driver to age associated degenerative human ailments / N. Bunkar, A. Bhargava, N. K. Khare et al. // *Front Biosci (Landmark Ed).*— 2016.— Vol. 21, № 1.— P. 769–793.
279. Cacanyiova, S. The role of oxidative stress in acetylcholine-induced relaxation of endothelium-denuded arteries / S. Cacanyiova,

- I. Dovinova, F. Kristek // *J. Physiol. Pharmacol.* — 2013. — Vol. 64, № 2. — P. 241–247.
280. Basal fat oxidation decreases with aging in women / J. Calles-Escandyn, P. J. Arciero, A. W. Gardner et al. // *J. Appl. Physiol.* — 1995. — Vol. 78, № 1. — P. 266.
281. Early decrease of oxidative stress by atorvastatin in hypercholesterolaemic patients: effect on circulating vitamin E / R. Cangemi, L. Loffredo, R. Carnevale et al. // *European Heart Journal.* — 2008. — Vol. 29. — P. 54–62.
282. Cao, L. Q. Opioid μ receptors mediate the stress-induced spatial reference memory impairment / L. Q. Cao, J. Wen, Z. Q. Liu // Sheng Li Xue Bao. — 2015. — Vol. 67, № 2. — P. 173–180.
283. Carrasco, G. A. Neuroendocrine pharmacology of stress / G. A. Carrasco, L. D. Van de Kar // *Euro. J. of Pharm.* — 2003. — Vol. 463. — P. 235–272.
284. Acetylcholine and choline effects on erythrocyte nitrite and nitrate levels / F. A. Carvalho, R. Mesquita, J. Martins-Silva et al. // *J. Appl. Toxicol.* — 2004. — Vol. 24, № 6. — P. 419–427.
285. Cholinergic activation of hematopoietic stem cells: role in tobacco-related disease? / E. Chang, E. C. Forsberg, J. Wu et al. // *Vascular Medicine.* — 2010. — Vol. 15, № 5. — P. 375–385.
286. Reactive nitrogen species contribute to the rapid onset of redox changes induced by acute immobilization stress in rats / H. J. Chen, J. G. Spiers, C. Sernia et al. // *Stress.* — 2014. — № 6. — P. 520–527.
287. Chénier, S. Postvaccinal reovirus infection with high mortality in breeder chicks / S. Chénier, M. Boulianne, C. A. Gagnon // *Avian. Dis.* — 2014. — Vol. 58, № 4. — P. 659–665.
288. Histone methylation patterns in astrocytes are influenced by age following ischemia / N. C. Chisholm, M. L. Henderson, A. Selvamani et al. // *Epigenetics.* — 2015. — Vol. 10, № 2. — P. 142–152.
289. Early life stress and inflammatory mechanisms of fatigue in the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study / H. J. Cho, J. E. Bower, C. I. Kiefe et al. // *Brain Behav Immun.* — 2012. — Vol. 26, № 6. — P. 859–865.
290. Potential redox-sensitive Akt activation by dopamine activates Bad and promotes cell death in melanocytes / H. R. Choi, J. W. Shin,

- H. K. Lee et al. // *Oxid. Med. Cell. Longev.*— 2010.— Vol. 3, № 3.— P. 219–224.
291. Christen, S. Antioxidant activities of some tryptophan metabolites: possible implication for inflammatory diseases / S. Christen, E. Peterhans, R. Stocker // *Proc Natl Acad Sci U S A.*— 1990.— Vol. 87, № 7.— P. 2506–2510.
 292. Mitochondrial oxidative metabolism is required for the cardiac differentiation of stem cells / S. Chung, P. P. Dzeja, R. S. Faustino et al. // *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.*— 2007.— № 4.— P. 60–67.
 293. Cooper, A. J. Tryptophan antidepressant «physiological sedative»: fact or fancy? / A. J. Cooper // *Psychopharmacology (Berl.)*— 1979.— Vol. 61, № 1.— P. 97–102.
 294. Fat Quality influences the obesogenic effect of high fat diets / R. Crescenzo, F. Bianco, A. Mazzoli et al. // *Nutrients.*— 2015.— Vol. 7, № 11.— P. 9475–9491.
 295. The paradoxical role of thioredoxin on oxidative stress and aging / G. M. Cunningham, M. G. Roman, L. C. Flores et al. // *Arch. Biochem. Biophys.*— 2015.— Vol. 576.— P. 32–38.
 296. Cardiac aging: from molecular mechanisms to significance in human health and disease / D. F. Dai, T. Chen, S. C. Johnson et al. // *Antioxid Redox Signal.*— 2012.— Vol. 16, № 12.— P. 1492–1526.
 297. Biochemistry of primary headaches: role of tyrosine and tryptophan metabolism / G. D'Andrea, S. Cevoli, D. Colavito et al. // *Neurol. Sci.*— 2015.— Vol. 36, Suppl. 1.— P. 17–22.
 298. Davis, I. What is the tryptophan kynurenine pathway and why is it important to neurotherapeutics? / I. Davis, A. Liu et al. // *Expert. Rev. Neurother.*— 2015.— Vol. 15, № 7.— P. 719–721.
 299. Comparison of the effects of single and daily repeated immobilization stress on resting activity and heterotypic sensitization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis / N. Daviu, C. Rabasa, R. Nadal, A. Armario // *Stress.*— 2014.— Vol. 17, № 2.— P. 176–185.
 300. Phosphatidylethanolamine is a key regulator of membrane fluidity in eukaryotic cells / R. Dawaliby, C. Trubbia, C. Delporte et al. // *J. Biol. Chem.*— 2016.— Vol. 291, № 7.— P. 3658–3667.
 301. Calorie restriction attenuates age-related alterations in the plasma membrane antioxidant system in rat liver / R. De Cabo,

- R. Cabello, M. Rios et al. // *Exp. Gerontol.*— 2004.— Vol. 39, № 3.— P. 297–304.
302. Hemoglobin oxidative stress in cancer / R.F. Della, A. Granata, M. Broccio et al. // *Anticancer Res.*— 1995.— Vol. 15, № 5.— P. 2089.
 303. Deuschle, E. Role of $\beta 1$ integrins and bacterial adhesins for Yop injection into leukocytes in *Yersinia enterocolitica* systemic mouse infection / E. Deuschle, B. Keller, A. Siegfried et al. // *Int J Med Microbiol.*— 2016.— Vol. 306, № 2.— P. 77–88.
 304. Dmitriev, L. F. Lipid peroxidation in relation to ageing and the role of endogenous aldehydes in diabetes and other age-related diseases / L. F. Dmitriev, V. N. Titov // *Ageing Res. Rev.*— 2010.— Vol. 9, № 2.— P. 200–210.
 305. Donskikh, E. A. The effect of dalargin on systemic hemodynamics and microcirculation in experimental traumatic shock / E. A. Donskikh, I. M. Kozhevnikova // *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.*— 1989.— № 1.— P. 39–42.
 306. Dontsov, A. V. The antioxidant effect of dalargin in patients with coronary heart disease and metabolic syndrome / A. V. Dontsov // *Eksp. Klin. Farmakol* [Article in Russian].— 2015.— Vol. 78, № 7.— P. 3–6.
 307. Effects of tryptophan depletion and a simulated alcohol binge on impulsivity / D. M. Dougherty, J. Mullen, N. Hill-Kapturczak et al. // *Exp. Clin. Psychopharmacol.*— 2015.— Vol. 23, № 2.— P. 109–121.
 308. Loss of muscle mass: current developments in cachexia and sarcopenia focused on biomarkers and treatment / C. Drescher, M. Konishi, N. Ebner et al. // *J. Cachexia Sarcopenia Muscle.*— 2015.— Vol. 6, № 4.— P. 303–311.
 309. Age related changes in rat glutathione metabolism / C. Duncan, C. Bryan, R. Lawrence et al. // *FASEB Journal.*— 1989.— Vol. 3, № 3.— P. 681.
 310. Dussor, G. Serotonin, 5HT1 agonists, and migraine: new data, but old questions still not answered / G. Dussor // *Curr Opin Support Palliat Care.*— 2014.— № 2.— P. 137–142.
 311. Effect of L-carnitine, afobazole and their combination with L-arginine on biochemical and histological indices of endothelial dysfunction

- in cobalt intoxication in rats / S. G. Dzugkoev, I. V. Mozhaeva, M. A. Otiev et al. // *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.* [Article in Russian]. — 2015. — Vol. 59, № 2. — P. 70–75.
312. Einsele, H. In vitro aging of red blood cells and lipid peroxidation / H. Einsele, M. R. Clemens, H. Remmer // *Arch. Toxicol.* — 1987. — Vol. 60, № 1. — P. 163–166.
313. Fernstrom, J. D. Tyrosine, phenylalanine, and catecholamine synthesis and function in the brain / J. D. Fernstrom, M. H. Fernstrom // *J. Nutr.* — Vol. 137, № 6. — P. 1539–1547.
314. Nuclear phosphoinositides: location, regulation and function. / R. Fiume, W. J. Keune, I. Faenza et al. // *Subcell Biochem.* — 2012. — Vol. 59. — P. 335–361.
315. Fleshner, M. Exercise and neuroendocrine regulation of antibody production: protective effect of physical activity on stress-induced suppression of the specific antibody response / M. Fleshner // *Int. J. Sports Med.* — 2000. — Suppl 21, Rev. 1. — P. S14–S19.
316. Fornal, C. Hypnotic effect of tryptophan analog in rats / C. Fornal, W. J. Wojcik, M. Radulovacki // *Pharmacol Biochem. Behav.* — 1979. — Vol. 11, № 3. — P. 319–323.
317. Fukuwatari, T. Nutritional aspect of tryptophan metabolism / T. Fukuwatari, K. Shibata // *Int J Tryptophan Res.* — 2013. — № 6. — P. 3–8.
318. Differential modulation of sympathetic and respiratory activities by cholinergic mechanisms in the nucleus of the solitary tract in rats / W. I. Furuya, M. Bassi, J. V. Menani et al. // *Exp Physio.* — 2014. — Vol. 99, № 5. — P. 743–758.
319. Nicotinic receptor alpha7 expression identifies a novel hematopoietic progenitor lineage / L. C. Gahring, E. Y. Enioutina, E. J. Myers et al. // *PLoS One.* — 2013. — Vol. 8, № 3. — P.e57481.
320. Ganzel, B. L. Allostasis and the human brain: Integrating models of stress from the social and life sciences / B. L. Ganzel, P. A. Morris, E. Wethington // *Psychol. Rev.* — 2010. — Vol. 117, № 1. — P. 134–174.
321. Ganzel, B. L. Allostasis and the human brain: Integrating models of stress from the social and life sciences / B. L. Ganzel, P. A. Morris,

- E. Wethington // Psychol Rev.— 2010.— Vol. 117, № 1.— P. 134–174.
322. Autophagy maintains stemness by preventing senescence / L. García-Prat, M. Martínez-Vicente, E. Perdiguero et al. // Nature.— 2016.— Vol. 529.— P. 37–42.
323. Role of reactive oxygen species in hyper-adrenergic hypertension: biochemical, physiological, and pharmacological evidence from targeted ablation of the chromogranin A (*chga*) gene / J. R. Gayen, K. Zhang, S. P. Ramachandra Rao et al. // Circ. Cardiovasc. Genet.— 2010.— Vol. 3, № 5.— P. 414–425.
324. Ghaffari, S. H. Saffron ethanolic extract attenuates oxidative stress, spatial learning, and memory impairments induced by local injection of ethidium bromide / S. H. Ghaffari, H. Hatami, G. Dehghan // Res. Pharm. Sci.— 2015.— Vol. 10, № 3.— P. 222–232.
325. Neuroprotective role of nanoencapsulated quercetin in combating ischemia-reperfusion induced neuronal damage in young and aged rats / A. Ghosh, S. Sarkar, A. K. Mandal et al. // PLoS One.— 2013.— Vol. 8, № 4.— e57735.
326. Gibbons, C. H. Experimental hypoglycemia is a human model of stress-induced hyperalgesia / C. H. Gibbons, G. K. Adler, I. Bonyhay // Pain.— 2012.— Vol. 153, № 11.— P. 2204–2209.
327. Gilboa-Geffen, A. Stressing hematopoiesis and immunity: an acetylcholinesterase window into nervous and immune system interactions / A. Gilboa-Geffen, G. Hartmann, H. Soreq // Front mol. neurosci.— 2012.— Vol. 5, № 30.— P. 54–63.
328. Giorgadze, S. The ESR study of redox state of hepatocytes during aging in white rats / S. Giorgadze, R. Rukhadze, T. Sanikidze // Georg. Med. News.— 2005.— № 1.— P. 62–64.
329. Goldstein, A. Sterospecific and non-specific interactions of the morphine congener levorphanol in subcellular fractions of mouse brain / A. Goldstein, L. Jowney, B. K. Pal // Proc. Nat. Acad. Sci. US.— 1971.— Vol. 68.— P. 1742–1745.
330. Goldstein, D. S. Catecholamines and stress / D. S. Goldstein // Endocrine regulations.— 2003.— Vol. 37.— P. 69–80.
331. Goncharova, N. D. Stress responsiveness of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis: age-related features of the vasopressinergic

- regulation / N.D. Goncharova // *Front. Endocrinol (Lausanne)*.— 2013.— Vol. 4.— P. 26–33.
332. Gorla, G. R., Polyploidy associated with oxidative injury attenuates proliferative potential of cells / G. R. Gorla, H. Malhi, S. Gupta // *J. Cell Sci.*— 2001.— Vol. 114, Pt. 16.— P. 2943–2951.
 333. Coffee extracts suppress tryptophan breakdown in mitogen-stimulated peripheral blood mononuclear cells / J. M. Gostner, S. Schroecksnadel, M. Jenny et al. // *Exp. Clin. Psychopharmacol.*— 2015.— Vol. 34, № 3.— P. 212–223.
 334. Impaired transcriptional activity of nrf2 in age-related myocardial oxidative stress is reversible by moderate exercise training / S. S. Gounder, S. Kannan, D. Devadoss et al. // *PLoS One*.— 2012.— Vol. 7, № 9.— e45697.
 335. Correlation between erythropoietin serum levels and erythrocyte susceptibility to lipid peroxidation in elderly with type 2 diabetes / D. Gradinaru, D. Margina, M. Ilie et al. // *Acta. Physiol Hung.*— 2015.— Vol. 102, № 4.— P. 400–408.
 336. Graja, A. Mechanisms of aging-related impairment of brown adipocyte development and function / A. Graja, T. J. Schulz, et al. // *Gerontology*.— 2015.— Vol. 61, № 3.— P. 211–217.
 337. Screening methods to identify indole derivatives that protect against reactive oxygen species induced tryptophan oxidation in proteins / P. Grewal, M. Mallaney, K. Lau et al. // *Mol Pharm.*— 2014.— Vol. 11, № 4.— P. 1259–1272.
 338. The evaluation of non-enzymatic antioxidants effects in limiting tumor-associated oxidative stress, in a tumor rat model / R. Grigorescu, M. I. Gruia, V. Nacea et al. // *J. Med. Life*.— 2015.— Vol. 8, № 4.— P. 513–516.
 339. Age-related peculiarities of succinate effect on induced lipid peroxidation in rat liver mitochondria / E. V. Grishina, Y. V. Khaustova, A. A. Vasilieva et al. // *Biofizika*.— 2015.— Vol. 60, № 4.— P. 708–715.
 340. Gruver, A. L. Cytokines, leptin, and stress-induced thymic atrophy / A. L. Gruver, G. D. Sempowski // *J. Leukoc. Biol.*— 2008.— Vol. 84, № 4.— P. 915–923.

341. Hydrogen peroxide-induced apoptosis in human gingival fibroblasts / G. Gutiérrez-Venegas, A. Guadarrama-Solís, C. Muñoz-Seca et al. // *Int. J. Clin Exp. Pathol.* — 2015. — № 12. — P. 15563–15572.
342. Han, J. ER-stress-induced transcriptional regulation increases protein synthesis leading to cell death / J. Han, S. H. Back, J. Hur // *Nat. Cell Biol.* — 2013. — Vol. 15, № 5. — P. 481–490.
343. Han, K. H. Relationships among alcoholic liver disease, antioxidants, and antioxidant enzymes / K. H. Han, N. Hashimoto, M. Fukushima // *World J. Gastroenterol.* — 2016. — Vol. 22, № 1. — P. 37–49.
344. Hypothalamic pituitary adrenal axis dysregulation in dysphoric children and adolescents: Cortisol reactivity to psychosocial stress from preschool through middle adolescence / B. L. Hankin, L. S. Badanes, S. E. Watamura et al. // *Biol Psychiatry.* — 2010. — Vol. 68, № 5. — P. 484–490.
345. Harman, D. The aging process / D. Harman // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA Biol. Sci.* — 1981. — Vol. 78, № 11. — P. 7124–7128.
346. Effects of 6-hydroxydopamine on sleep in the rat / E. Hartmann, R. Chung, P. R. Draskoczy et al. // *Nature.* — 1971. — Vol. 233. — P. 425–427.
347. Hartmann, E. The insomnia of ‘sleeping in a strange place’: effects of l-tryptophane / E. Hartmann, R. Elion // *Psychopharmacology (Berl).* — 1977. — Vol. 53, № 2. — P. 131–133.
348. Hasan, S. K. Geraniol attenuates 2-acetylaminofluorene induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in the liver of wistar rats / S. K. Hasan, S. Sultana // *Toxicol Mech Methods.* — 2015. — Vol. 25, № 7. — P. 559–573.
349. Hasselmo, M. E. The role of acetylcholine in learning and memory / M. E. Hasselmo // *Curr. Opin. Neurobiol.* — 2006. — Vol. 16, № 6. — P. 710–715.
350. Hecker, J. G. Heat shock proteins as biomarkers for the rapid detection of brain and spinal cord ischemia: a review and comparison to other methods of detection in thoracic aneurysm repair / J. G. Hecker, M. McGarvey // *Cell Stress Chaperones.* — 2011. — Vol. 16, № 2. — P. 119–131.
351. Helbig, D. Changes occurring at the molecular level in aging skin and during wound healing after ablative fractional

- photothermolysis / D. Helbig, U. Paasch // *Skin Research and Technology*.— 2011.— № 17.— С. 119.
352. Henderson, B. Proteotoxic stress and circulating cell stress proteins in the cardiovascular diseases / B. Henderson, A. G. Pockley // *Cell Stress Chaperones*.— 2012.— Vol. 17, № 3.— P. 303–311.
 353. Henderson, B. Proteotoxic stress and circulating cell stress proteins in the cardiovascular diseases / B. Henderson, A. G. Pockley // *Cell Stress Chaperones*.— 2012.— Vol. 17, № 3.— P. 303–311.
 354. Hirabayashi, Y. Radiation-induced, cell cycle-related gene expression in aging hematopoietic stem cells: enigma of their recovery / Y. Hirabayashi // *Ann N Y Acad Sci*. 2014.— Vol. 131, № 1.— P. 69–73.
 355. HollanB, W. C. The synthesis of acetylcholine by human erythrocytes / W. C. HollanB, M. E. Greig // *Arch. Biochem. Biophys*.— 1952.— Vol. 39, № 1.— С. 77–79.
 356. Honda, S. Relationships between the cellular glutathione level and in vitro life span of human diploid fibroblasts / S. Honda, M. Matsuo // *Exp. Gerontol*.— 1988.— Vol. 23, № 2.— P. 81–86.
 357. Horst, N. K. Impaired auditory discrimination learning following perinatal nicotine exposure or $\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptor subunit deletion / N. K. Horst, C. J. Heath, N. M. Neugebauer // *Behav. Brain Res*.— 2012.— Vol. 231, № 1.— P. 170–180.
 358. Effects of racing on reticulocyte concentrations in Greyhounds / S. J. Horvath, C. G. Couto, K. Yant et al. // *Vet Clin Pathol*.— 2013.— Vol. 43, № 1.— P. 15–23.
 359. Hu, X. The effect of acetylcholine and atropine on proliferation and differentiation and mAChR1 expression of human SK-N-SH cells / X. Hu, J. X. Lu // *Shi yan Sheng wu xue bao*.— 2005.— Vol. 38, № 4.— P. 287–296.
 360. Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity / J. Hughes, T. W. Smith, H. W. Kosterlitz et al. // *Nature*.— 1975.— Vol. 258.— P. 577–579.
 361. Hughes, J. Peripheral opiate receptor mechanisms / J. Hughes // *Trends Pharmacol Sci*.— 1981.— Vol. 1.— P. 21–24.
 362. Hundekari, J. C. Plasma catecholamine's and blood pressure changes after prolonged exposure to stressful stimuli (heat) / J. C. Hundekari

- // Journal of Dental and Medical Sciences.— 2012.— Vol. 1, № 5.— P. 43–46.
363. Iuga, C. ROS Initiated oxidation of dopamine under oxidative stress conditions in aqueous and lipidic environments / C. Iuga, J. R. Alvarez-Idaboy, A. Vivier-Bunge // J. Phys. Chem. B.— 2011.— Vol. 115, № 42.— P. 12234–12246.
 364. Mimicking the lipid peroxidation inhibitory activity of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (GPx4) by using fatty acid conjugates of a water-soluble selenolane / M. Iwaoka, A. Katakura, J. Mishima et al. // Molecules.— 2015.— Vol. 20, № 7.— P. 12364–12375.
 365. Jodko, K. Oxidative stress in the neurodegenerative diseases-potential antioxidant activity of catecholamines / K. Jodko, G. Litwinienko // Postepy Biochem.— 2010.— Vol. 56, № 3.— P. 248–259.
 366. Jonathan, E. S. Post-traumatic stress disorder: the neurobiological impact of psychological trauma / J. E. Sherin, C. B. Nemeroff // Dialogues clin. neurosci.— 2011.— Vol. 13, № 3.— P. 263–278.
 367. Moderate exercise leads to decreased expression of beta1 and beta2 integrins on leucocytes / J. Jordan, R. Beneke, M. Hütler et al. // Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.— 1997.— Vol. 76, № 2.— P. 192–194.
 368. Kamel, H. H. Biochemical assessment of oxidative status versus liver enzymes in patients with chronic fascioliasis / H. H. Kamel, R. M. Sarhan, G. A. Saad // J. Parasit Dis.— 2015.— Vol. 39, № 4.— P. 628–633.
 369. Karin, M. Reparative inflammation takes charge of tissue regeneration / M. Karin, H. Clevers // Nature.— 2016.— Vol. 529 (7586).— P. 307–315.
 370. Khalil, D. Cholinergics, Airway eosinophils and asthma exacerbation in the elderly / D. Khalil, J. Hirota, P. Nair // The Indian journal of chest diseases & allied sciences.— 2011.— Vol. 53.— P. 59–61.
 371. Khokhlov, A. N. Impairment of regeneration in aging: appropriateness or stochastics? / A. N. Khokhlov // Ontogenez.— 2013.— Vol. 44, № 6.— P. 434–440.

372. Subcellular kinetics of In-111 monoclonal antibody in the liver / S. Kinuya, K. Yokoyama, N. Watanabe et al. // *Kaku Igaku* [Article in Japanese].— 1989.— Vol. 26, № 2.— P. 231–237.
373. Kirkpatrick, D. T. Detection of in vivo lipid peroxidation using the thiobarbituric acid assay for lipid hydroperoxides / D. T. Kirkpatrick // *J. Biochem. Toxicol.*— 1986.— Vol. 1, № 1.— P. 93–99.
374. Antioxidant enzymatic activities in Alzheimer's disease: the relationship to acetylcholinesterase inhibitors / A. Klugman, D. P. Naughton, M. Isaac et al. // *J Alzheimers Dis.*— 2012.— Vol. 30, № 3.— P. 467–474.
375. Kobayashi, K. Role of catecholamine signaling in brain and nervous system functions: new insights from mouse molecular genetic study / K. Kobayashi // *J. Investig. Dermatol Symp. Proc.*— 2001.— Vol. 6, № 1.— P. 115–121.
376. Role of TrkB expression in rat adrenal gland during acute immobilization stress / Y. Kondo, M. To, J. Saruta et al. // *J. of Neurochemistry.*— 2013.— Vol. 124, № 2.— P. 224–232.
377. Kono, N. Intracellular platelet-activating factor acetylhydrolase, type ii: a unique cellular phospholipase A2 that hydrolyzes oxidatively modified phospholipids / N. Kono, H. Arai // *Enzymes.*— 2015.— Vol. 38.— P. 43–54.
378. Quantitative alterations in the products of lipid peroxidation under stress / N. I. Koshoridze, K. O. Menabde, Z. T. Kuchukashvili et al. // *Journal of stress physiology & biochemistry.*— 2010.— Vol. 6, № 2.— P. 5–12.
379. Nicotinic acetylcholine receptors alpha4beta2 and alpha7 regulate myelo- and erythropoiesis within the bone marrow / L. M. Koval, A. S. Zverkova, R. Grailhe et al. // *Int. J. biochem. cell. biol.*— 2008.— Vol. 40, № 5.— P. 980–990.
380. Krymchantowski, A. V. Wine and headache / A. V. Krymchantowski, C. da Cunha Jevoux // *Headache.*— 2014.— Vol. 54, № 6.— P. 967–975.
381. Kume, H. Ethanolamine modulates DNA synthesis through epidermal growth factor receptor in rat primary hepatocytes / H. Kume, H. Sasaki // *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.*— 2006.— Vol. 42, № 1–2.— P. 20–26.

382. Kume, H. Serum ethanolamine and hepatocyte proliferation in perinatal and partially hepatectomized rats / H. Kume, H. Sasaki, T. Kano-Sueoka // *Life Sci.* — 2006. — Vol. 79. — P. 1764–1772.
383. Larauche, M. Stress and visceral pain: from animal models to clinical therapies / M. Larauche, A. Mulak, Y. Taché // *Exp. Neurol.* — 2012. — Vol. 233, № 1. — P. 49–67.
384. B6D2F1 mice are a suitable model of oxidative stress-mediated impaired endothelium-dependent dilation with aging / L. A. Lesniewski, M. L. Connell, J. R. Durrant et al. // *J. gerontol. a biol. Sci: Med. sci.* — 2009. — Vol. 64A, № 1. — P. 9–20.
385. Levitan, R. D. Preliminary randomized double-blind placebo-controlled trial of tryptophan combined with fluoxetine to treat major depressive disorder: antidepressant and hypnotic effects / R. D. Levitan, J. H. Shen, R. Jindal // *J. Psychiatry Neurosci.* — 2000. — Vol. 25, № 4. — P. 337–346.
386. Lindsley, J. G. Selectivity in response to L-tryptophan among insomniac subjects: a preliminary report / J. G. Lindsley, E. L. Hartmann, W. Mitchell // *Sleep.* — 1983. — Vol. 6, № 3. — P. 247–256.
387. Linnoila, M. Efficacy and side effects of chloral hydrate and tryptophan as sleeping aids in psychogeriatric patients / M. Linnoila, M. Viukari, A. Numminen // *Int. Pharmacopsychiatry.* — 1980. — Vol. 15, № 2. — P. 124–128.
388. Biomarkers of oxidative stress are associated with frailty: the Framingham Offspring Study / C. K. Liu, A. Lyass, M. G. Larson et al. // *Age (Dordr).* — 2016. — Vol. 38, № 1. — P. 35–41.
389. Downregulation of caveolin-1 contributes to the synaptic plasticity deficit in the hippocampus of aged rats / Y. Liu, Z. Liang, J. Liu et al. // *Neural Regen Res.* — 2013. — Vol. 29, № 8. — P. 2725–2733
390. Analysis of arachidonic acid relative content changes in erythrocytes and platelets phospholipids membranes features in coronary heart disease with atrial fibrillation patients / V. G. Lizogub, T. V. Zavalska, I. O. Merkulova et al. // *Lik Sprava (Ukrainian).* — 2015. — № 3–4. — P. 82–87.

391. Lubrano, V. Enzymatic antioxidant system in vascular inflammation and coronary artery disease / V. Lubrano, S. Balzan // *World J. Exp. Med.* — 2015. — Vol. 5, № 4. — P. 218–224.
392. Neuropathology of stress / P.J. Lucassen, J. Pruessner, N. Sousa et al. // *Acta Neuropathol.* — 2014. — Vol. 127. — P. 109–135.
393. Nutrients and radiotherapy; review of the literature / J. Luna, E. Amaya, M. V. De Torres et al. // *Nutr. Hosp.* — 2015. — Vol. 32, № 6. — P. 2446–2459.
394. The effects of stress and stress hormones on human cognition: Implications for the field of brain and cognition / S.J. Lupien, F. Maheu, M. Tu et al. // *Brain and Cognition.* — 2007. — Vol. 65. — P. 209–237.
395. Mitochondria express several nicotinic acetylcholine receptor subtypes to control various pathways of apoptosis induction / O. Lykhmus, G. Gergalova, L. Koval et al. // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* — 2014. — Vol. 53. — P. 246–252.
396. Inactivation of catecholamines by superoxide gives new insights on the pathogenesis of septic shock / H. Macarthur, T. C. Westfall, D. P. Riley et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2000. — Vol. 97, № 17. — P. 9753–9758.
397. Acute tryptophan depletion and Lewy body dementias / J.L. Mace, R.J. Porter, J.C. Dalrymple-Alford et al. // *Int. Psychogeriatr.* — 2016. — Vol. 18. — P. 1–5.
398. Macejka, J. Formation of reactive oxygen metabolites and activity of antioxidant enzymes in human blood cells as a function of age / J. Macejka, L. Bergendi, V. Balaz // *Biologia.* — 1988. — Vol. 43, № 8. — P. 723–730.
399. Lipoprotein-associated phospholipase A2 prognostic role in atherosclerotic complications / G. Maiolino, V. Bisogni, G. Rossitto et al. // *World J. Cardiol.* — 2015. — № 10. — P. 609–620.
400. Deprivation of L-arginine induces oxidative stress mediated apoptosis in leishmania donovani promastigotes: contribution of the polyamine pathway / A. Mandal, S. Das, S. Roy et al. // *PLoS Negl. Trop. Dis.* — 2016. — Vol. 10, № 1. — P. 43–47.

401. Maneatis, T. Effect of age on plasma glucose and insulin responses to a test mixed meal / T. Maneatis, R. Condie, G. Reaven // *J. Am. Geriatr Soc.*— 1982.— Vol. 30, № 3.— P. 178–182.
402. Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease / H. Mangge, K. Becker, D. Fuchs et al. // *World J Cardiol.*— 2014.— Vol. 6, № 6.— P. 462–477.
403. Comparative analysis of action of nitric oxide as a free radical and its storage form on the state of pro- and antioxidant blood systems / A. K. Martusevich, A. G. Soloveva, S. P. Peretyagin et al. // *Biofizika.*— 2015.— Vol. 60, № 2.— P. 348–354.
404. Resilience Patterns: Improving Stress Adaptation Based on an Individual's Personal Features / T. Mayordomo-Rodríguez, X. García-Massó, A. Sales-Galán et al. // *Int. J. Aging Hum. Dev.*— 2015.— Vol. 80, № 4.— P. 316–331.
405. McEwen, B. S. Central role of the brain in stress and adaptation: Links to socioeconomic status, health, and disease / Bruce S. McEwen, Peter J. Gianaros // *Ann N. Y. Acad. Sci.*— 2010.— Vol. 1186.— P. 190–222.
406. Neuroendocrine regulation of hydromineral homeostasis / S. Mecawi Ade, S. G. Ruginsk, L. L. Elias et al. // *Compr. Physiol.*— 2015.— Vol. 5, № 3.— P. 1465–1516.
407. Treatment of chronic hepatitis C virus infection via antioxidants: results of a phase I clinical trial / A. Melhem, M. Stern, O. Shibolet et al. // *J. Clin. Gastroenterol.*— 2005.— Vol. 39, № 8.— P. 737–742.
408. Mendels, J. Reduced central serotonergic activity in mania: implications for the relationship between depression and mania / J. Mendels A. Frazer // *Br. J. Psychiatry.*— 1975.— Vol. 126.— P. 241–248.
409. Comparative analysis of gerontologic prophylaxis efficiency and membranotropic action of various gas therapy / V. N. Meshchaninov, E. N. Gerasimenko, E. M. Zvezdina et al. // *Advances in Gerontology.*— 2014.— Vol. 27, № 3.— P. 477–483.
410. Effect of synthetic peptides on aging of patients with chronic polymorbidity and organic brain syndrome of the central nervous system in remission / V. N. Meshchaninov, E. L. Tkachenko,

- S. V. Zharkov et al. // *Advances in Gerontology*.— 2015.— Vol. 28, № 1.— P. 62–67.
411. Age-related subproteomic analysis of mouse liver and kidney peroxisomes / J. Mi, I. Garcia-Arcos, R. Alvarez et al. // *Proteome Sci.*— 2007.— № 5.— P. 19–24.
412. Accelerated senescence of armed conflicts participants suffering from the consequences of war cranial-cerebral trauma and alcoholism / V. S. Miakotnykh, V. V. Iampol'skaia, V. N. Meshchaninov et al. // *Advances in Gerontology*.— 2007.— Vol. 20, № 1.— P. 112–117.
413. Dynamics of lipid peroxidation and antioxidant defense processes in elderly patients during preparation to ophthalmosurgical interventions / V. S. Miakotnykh, V. A. Men'shikova, V. N. Meshchaninov et al. // *Advances in Gerontology*.— 2007.— Vol. 20, № 2.— P. 116–20.
414. Separation of metallothionein isoforms of mouse liver cytosol by capillary zone electrophoresis / T. Minami, C. Yoshita, M. Tanaka et al. // *Talanta*.— 1998.— Vol. 46, № 2.— P. 347–354.
415. Modzelewski, B. Lipid peroxidation product as prognostic factors in acute necrotizing pancreatitis / B. Modzelewski, A. Janiak // *Pol. Merkur. Lekarski*.— 2005.— Vol. 19, № 12.— P. 511–513.
416. Catecholamine contents of different region of adult rat brain are altered following short and long-term exposures to Pb+2 / M. Moshtaghieh, P. Malekpourib, M. Saeed-zadehc et al. // *Iranian J. of Pharm. Res.*— 2013.— Vol. 12, № 2.— P. 461–468.
417. Effects of activation of kappa-opioid receptors on the behavior at the postnatal development of the stress reactivity systems / V. N. Mukhin, I. N. Abdurasulova, K. I. Pavlov et al. // *Russ. Fiziol. Zh. Im I M Sechenova*.— 2015.— Vol. 101, № 3.— P. 268–278.
418. Changes in serotonin (5-HT) and brain-derived neurotrophic factor (BDFN) expression in frontal cortex and hippocampus of aged rat treated with high tryptophan diet / G. Musumeci, P. Castrogiovanni, S. Castorina et al. // *Brain Res Bull.*— 2015.— Vol. 119, Pt.A.— P. 12–18.
419. Comparative analysis of different geroprotective methods / V. S. Myakotnykh, M. N. Torgashov, K. V. Egorin et al. // *Advances in Gerontology*.— 2017.— Vol. 7, № 1.— P. 75–82.

420. The dynamics of health and the rate of aging in patients of different age and sex in the treatment of moderate multiple pathologies / V.S. Myakotnykh, I. V. Gavrilov, K. V. Egorin et al. // *Advances in Gerontology*.— 2014.— Vol. 4, № 1.— P. 55–61.
421. Nascimento, C.R. Daily intake of lead in Wistar rats at different ages: Biochemical, genotoxic and physiological effects / C.R. Nascimento, C.B. Martinez // *Environ Toxicol Pharmacol*.— 2015.— Vol. 41.— P. 132–141.
422. Correlation between cardiac oxidative stress and myocardial pathology due to acute and chronic norepinephrine administration in rats / M. Neri, D. Cerretani, A. Fiaschi et al. // *J. Cell. Mol. Med*.— 2007.— Vol. 11, № 1.— P. 156–170.
423. Nostramo, R. Regulation of angiotensin II Type 2 receptor gene expression in the adrenal medulla by acute and repeated immobilization stress / R. Nostramo, A. Tillinger, J.M. Saavedra // *J. Endocrinol*.— 2012.— Vol. 215, № 2.— P. 291–301.
424. Nyuyki, K.D. Chronic subordinate colony housing (CSC) as a model of chronic psychosocial stress in male rats / K.D. Nyuyki, D.I. Beiderbeck, M. Lukas // *PLoS One*.— 2012.— Vol. 7, № 12.— e52371.— P. 1–11.
425. Ochoa, J. J. Aging-related oxidative stress depends on dietary lipid source in rat postmitotic tissues / J.J. Ochoa, J.L. Quiles, S. Ibanez // *J. Bioenerg. Biomembr*.— 2003.— Vol. 35, № 3.— P. 267–275.
426. Okamoto, H. Diurnal variations in human urinary excretion of nicotinamide catabolites: effects of stress on the metabolism of nicotinamide / H. Okamoto, A. Ishikawa et al. // *Am J Clin Nutr*.— 2003.— Vol. 77, № 2.— P. 406–410.
427. Lipid peroxidation in bariatric candidates with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) — preliminary findings / C.P. Oliveira, J. Faintuch, A. Rascovski et al. // *Obes. Surg*.— 2005.— Vol. 15, № 4.— P. 505–505.
428. Liver function in rats acclimatized to a simulated altitude of 5500 m / L.C. Ou, C. Faulkner, V. Tam et al. // *High Alt. Med. Biol*.— 2013.— Vol. 14, № 4.— P. 375–382.
429. Oxenkrug, G. F. Tryptophan kynurenine metabolism as a common mediator of genetic and environmental impacts in major depressive

- disorder: the serotonin hypothesis revisited 40 years later // G. F. Oxenkrug // *Isr J Psychiatry Relat Sci.*— 2010.— Vol. 47, № 1.— P. 56–63.
430. Intensity of proliferative processes and degree of oxidative stress in the mucosa of the ileum in Crohn's disease / E. V. Ozhegov, E. Y. Zhivotova, O. A. Lebedko et al. // *Bull. Exp. Biol. Med.*— 2012.— Vol. 152, № 4.— P. 420–423.
 431. Reduced muscle mitochondrial enzyme activity in MuSK-immunized mice / E. Özkök, H. Durmuş, B. Yetimler et al. // *Clin. Neuropathol.*— 2015.— Vol. 34, № 6.— P. 359–363.
 432. Pacak, K. Pheochromocytoma: a catecholamine and oxidative stress disorder / K. Pacak // *Endocr. Regul.*— 2011.— Vol. 45, № 2.— P. 65–90.
 433. Tryptophan biochemistry: structural, nutritional, metabolic, and medical aspects in humans [Электронный ресурс] / L. Palego, L. Betti, A. Rossi et al. // *J. Amino Acids.*— 2016. Режим доступа: <http://www.hindawi.com/journals/jaa/2016/8952520/>
 434. A systems approach identifies co-signaling molecules of early growth response 1 transcription factor in immobilization stress / N. A. Papanikolaou, A. Tillinger, X. Liu et al. // *BMC Syst. Biol.*— 2014.— Vol. 8, № 1.— P. 100.
 435. A new mitochondrial pool of cyclin E, regulated by Drp1, is linked to cell-density-dependent cell proliferation / D. J. Parker, A. Iyer, S. Shah et al. // *J. Cell. Sci.*— 2015.— Vol. 128, № 22.— P. 4171–4182.
 436. Patchev, V. K. Experimental models of stress / V. K. Patchev, A. V. Patchev // *Dialogues Clin Neurosci.*— 2006.— Vol. 8, № 4.— P. 417–432.
 437. Payne, B. A. Mitochondrial dysfunction in aging: Much progress but many unresolved questions / B. A. Payne, P. F. Chinnery // *Biochim Biophys Acta.*— 2015.— Vol. 47, № 11.— P. 1347–1353.
 438. Peart, J. N. Opposing effects of age and calorie restriction on molecular determinants of myocardial ischemic tolerance / J. N. Peart, L. S. Hoe, S. Pepe // *Rejuvenation Res.*— 2012.— Vol. 15, № 1.— P. 59–70.

439. Rat peptide methionine sulfoxide reductase: cloning of the cDNA, and down-regulation of gene expression and enzyme activity during aging / I. Petropoulos, J. Mary, M. Perichon et al. // *Biochem J.*— 2001.— Vol. 355, № 3.— P. 819–825.
440. Serum total antioxidant capacity in healthy centenarians / E. Petruzzi, P. Pinzani, C. Orlando et al. // *Bioluminescence and Chemiluminescence.*— 1997.— Vol. 12, № 1.— P. 55.
441. Picciotto, M.R. Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior / M.R. Picciotto, M.J. Higley, Y.S. Mineur // *Neuron.*— 2012.— Vol. 76, № 1.— P. 116–129.
442. Volumetric portal embolization: a new concept to improve liver regeneration and hepatocyte engraftment / G. Pourcher, H. El-Kehdy, F. Kanso et al. // *Transplantation.*— 2016.— Vol. 100, № 2.— P. 344–354.
443. Prokic, M.D. Prooxidative effects of aspartame on antioxidant defense status in erythrocytes of rats / M.D. Prokic, M.G. Paunovic, M.M. Matic // *J. Biosci.*— 2014.— Vol. 39, № 5.— P. 859–866.
444. Nitric oxide diffusion to red blood cells limits extracellular, but not intraphagosomal, peroxynitrite formation by macrophages / C. Prolo, M.N. Álvarez, N. Ríos et al. // *Free Radic. Biol. Med.*— 2015.— Vol. 87, № 10.— P. 346–355.
445. Non-targeted metabolite profiling reveals changes in oxidative stress, tryptophan and lipid metabolisms in fearful dogs / J. Puurunen, K. Tiira, M. Lehtonen et al. // *Behav. Brain Funct.*— 2016.— Vol. 12, № 1.— P. 7–10.
446. Enhancing tyrosine hydroxylase and tryptophan hydroxylase expression and improving oxidative stress involved in the antidepressant effect of sodium valproate on rats undergoing chronic unpredicted stress / H.M. Qiu, J.X. Yang, X.H. Jiang et al. // *Neuroreport.*— 2015.— Vol. 26, № 12.— P. 1145–1150.
447. Omega-3 polyunsaturated fatty acids promote liver regeneration after 90% hepatectomy in rats / Y.D. Qiu, S. Wang, Y. Yang et al. // *World J. Gastroenterol.*— 2012.— Vol. 25.— P. 3288–3295.

448. Interplay between oxidant species and energy metabolism / C. Quijano, M. Trujillo, L. Castro et al. // *Redox Biol.* — 2015. — Vol. 30, № 8. — P. 28–42.
449. Mitochondrial cytochrome c oxidase deficiency / M. Rak, P. Bénit, D. Chrétien et al. // *Clin Sci (Lond).* — 2016. — Vol. 130, № 6. — P. 393–407.
450. Proton leak and hydrogen peroxide production in liver mitochondria from energy-restricted rats / J. J. Ramsey, K. Hagopian, T. M. Kenny et al. // *Am. J. Physiol. Endocrinol Metab.* — 2004. — Vol. 286, № 1. — P. 31–40.
451. Effects of pharmaceutical formulations containing thyme on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats / A. Rašković, N. Pavlović, M. Kvrđić et al. // *BMC Complement Altern Med.* — 2015. — Vol. 15, № 1. — P. 442.
452. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in isoproterenol induced oxidative stress in rat tissues / N. Rathore, S. John, M. Kale et al. // *Pharmacol Res.* — 1998. — Vol. 38, № 4. — P. 297–303.
453. High oxygen prevents fetal lethality due to lack of catecholamines / M. A. Ream, R. Chandra, M. Peavey et al. // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* — 2008. — Vol. 295, № 3. — P. 942–953.
454. Melatonin and tryptophan derivatives as free radical scavengers and antioxidants / R. J. Reiter, D. X. Tan, J. Cabrera et al. // *Adv Exp Med Biol.* — 1999. — Vol. 467. — P. 379–387.
455. The oxidant/antioxidant network: role of melatonin / R. J. Reiter, D. X. Tan, J. Cabrera et al. // *Biol Signals Recept.* — 1999. — Vol. 8, № 1. — P. 56–63.
456. Rikans, L. E. Age and gender differences in hepatic ascorbic acid concentrations and NADPH — dehydroascorbic acid reductase activity / L. E. Rikans, T. R. Lopez, K. R. Hornbrook // *Mech. Ageing and Dev.* — 1996. — Vol. 91, № 3. — P. 165–169.
457. Adrenaline-activated structure of β 2-adrenoceptor stabilized by an engineered nanobody / A. M. Ring, A. Manglik, A. C. Kruse et al. // *Nature.* — 2013. — Vol. 502. — P. 575–579.
458. Accelerated aging of giant transgenic mice is associated with elevated free radical processes / C. D. Rollo, J. Carlson, M. Sawada, J. Can // *Zool.* — 1996. — Vol. 74, № 4. — P. 606–620.

459. A new oxidative stress model, 2,2-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride induces cardiovascular damages in chicken embryo / Rong-Rong He, Yan Li, Xiao-Di Li et al. // PLoS One.— 2013.— Vol. 8, № 3.— e57732.— P. 1–8.
460. Rudnicka, A. R. Diurnal, seasonal, and blood-processing patterns in levels of circulating fibrinogen, fibrin D-dimer, C-reactive protein, tissue plasminogen activator, and von Willebrand factor in a 45-year-old population / A. R. Rudnicka, A. Rumley, G. D. Lowe // Circulation.— 2007.— Vol. 115, № 8.— P. 996–1003.
461. Rugarli, E. Is mitochondrial free radical theory of aging getting old? / E. Rugarli, A. Trifunovic // Biochim Biophys Acta.— 2015.— Vol. 47, № 11.— P. 1345–1347.
462. Blood lipids, homocysteine, stress factors, and vitamins in clinically stable multiple sclerosis patients / G. Salemi, M. Concetta Gueli, F. Vitale et al. // Lipids in Health and Disease.— 2010.— Vol. 19, № 19.— P. 13–17.
463. Lack of methionine sulfoxide reductase A in mice increases sensitivity to oxidative stress but does not diminish life span / A. B. Salmon, V. I. Perez, A. Bokov et al. // FASEB J.— 2009.— Vol. 23, № 10.— P. 3601–3608.
464. Samuels, A. I. Effects of acetylcholinesterase on erythropoiesis in polycythemic and mildly plethoric mice / A. I. Samuels, L. Moller, J. W. Fisher // Ann. NY Acad. Sci.— 1968.— Vol. 149, № 1.— P. 406–408.
465. Epigenetic mechanisms regulate NADPH oxidase-4 expression in cellular senescence / Y. Y. Sanders, H. Liu, G. Liu et al. // Free Radic. Biol. Med.— 2015.— Vol. 79.— P. 197–205.
466. A computable cellular stress network model for non-diseased pulmonary and cardiovascular tissue / W. K. Schlage, J. W. Westra, S. Gebel, et al. // BMC Syst Biol.— 2011.— Vol. 5.— P. 168–181.
467. The Successful Aging After Elective Surgery Study: Cohort Description and Data Quality Procedures / E. M. Schmitt, J. S. Saczynski, C. M. Kosar et al. // J. Am. Geriatr Soc.— 2015.— Vol. 63, № 12.— P. 2463–2471.

468. Schneider-Helmert, D. Evaluation of L-tryptophan for treatment of insomnia: a review / D. Schneider-Helmert, C.L. Spinweber // *Psychopharmacology (Berl)*.— 1986.— Vol. 89, № 1.— P. 1–7.
469. Evidence for the free radical/oxidative stress theory of ageing from the CHANCES consortium: a meta-analysis of individual participant data / B. Schöttker, H Brenner, E. H. Jansen et al. // *BMC Med*.— 2015.— Vol. 13, № 1.— P. 300–307.
470. Semsel, I. Changes in the expression of superoxide dismutase and catalase as a function of age and dietary restriction / I. Semsel, G. Rao, A. Richardson // *Biochem. and Biophys. Res. Commun*.— 1989.— Vol. 164, № 2.— P. 620–633.
471. Shcherbakov, D. L. Tryptophan and nicotinic acid as antioxidants in different age rats brain at the immobilization stress / D. L. Shcherbakov, V. V. Emel'ianov, V. N. Meshchaninov // *Advances in Gerontology*.— 2014.— Vol. 27, № 4.— P. 730–736.
472. Shi, H. Y. Effect of genistein on hepatic stellate cell proliferation and lipid peroxidation in vitro / H. Y. Shi, J. W. Xu, X. X. Ren. // *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*.— 2008.— Vol. 28, № 11.— P. 2066–2068.
473. Acetylcholine released from cholinergic nerves contributes to cutaneous vasodilation during heat stress / M. Shibasaki, T. E. Wilson, J. Cui et al. // *Journal of applied physiology*.— 2002.— Vol. 93, № 6.— P. 1947–1951.
474. Shibata, K. Pharmacological doses of nicotinic acid and nicotinamide are independently metabolized in rats / K. Shibata, T. Fukuwatari, C. Suzuki // *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*.— 2014.— Vol. 60, № 2.— P. 86–93.
475. A study of endotoxin-associated hepatotoxicity on proliferating hepatocytes / Y. Shibayama, S. Asaka, A. Nishijima et al. // *Exp. Mol. Pathol*.— 1992.— Vol. 56, № 1.— P. 70–75.
476. Indole-3-carbinol enhances oxidative stress responses resulting in the induction of preneoplastic liver cell lesions in partially hepatectomized rats initiated with diethylnitrosamine / K. Shimamoto, Y. Dewa, Y. Ishii, et al. // *Toxicology*.— 2011.— Vol. 283, № 2–3.— P. 109–117.
477. Structure effect on antioxidant activity of catecholamines toward singlet oxygen and other reactive oxygen species in vitro / T. Shimizu,

- Y. Nakanishi, M. Nakahara et al. // *J. clin. biochem. nutr.*— 2010.— Vol. 47, № 3.— P. 181–190.
478. Effects of dalargin on some parameters of peroxidation of liver lipids in experimental animals / B. M. Shloznikov, R. N. Korotkina, N. V. Babkina et al. // *Biull Eksp Biol Med.*— 1990.— Vol. 110, № 12.— P. 609–610.
 479. Energy Metabolism in Mesenchymal Stem Cells During Osteogenic Differentiation / L. C. Shum, N. S. White, B. N. Mills et al. // *J. Cell. Sci.*— 2016.— Vol. 25, № 2.— P. 114–122.
 480. Solubilization of active opiate receptors / W. F. Simons, G. Koski, R. A. Streaty et al. // *Proc. Nat. Acad. Sci. US.*— 1980.— Vol. 77.— P. 4623–4627.
 481. Sine, S. M. End-plate acetylcholine receptor: structure, mechanism, pharmacology, and disease / S. M. Sine // *Physiol. Rev.*— 2012.— Vol. 92, № 3.— P. 1189–1234.
 482. Functional nicotinic acetylcholine receptors are expressed in B lymphocyte-derived cell lines / M. V. Skok, E. N. Kalashnik, L. N. Koval et al. // *Molecular pharmacology.*— 2003.— Vol. 64, № 4.— P. 885–889.
 483. Skulachev, V. P. Cytochrome C in the apoptotic and antioxidant cascades/ V. P. Skulachev // *FEBS Lett.*— 1998.— Vol. 423.— P. 275–280.
 484. Sletvold, O. Circadian rhythms of peripheral blood leukocytes in aging mice / O. Sletvold // *Mech. Ageing Dev.*— 1987.— Vol. 39, № 3.— P. 251–261.
 485. Sohal, R. S. Caloric restriction and the aging process: a critique / R. S. Sohal, M. J. Forster // *Free Radic. Biol Med.*— 2014.— Vol. 73.— P. 366–382.
 486. Superoxide anion radical production in different animal species / R. S. Sohal, I. Svenson, B. H. Sohal et al. // *Mech. Ageing and Dev.*— 1989.— Vol. 49, № 2.— P. 129–135.
 487. Solin, A. V. The influence of opioid peptides on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity in rats after swimming stress / A. V. Solin, Y. D. Lyashev // *Russ. Fiziol. Zh. Im I M Sechenova.*— 2015.— Vol. 101, № 8.— P. 929–935.

488. Phospholipids metabolism disorders in acute stroke / E. Y. Solovieva, I. K. Farrahova, A. N. Karneev et al. // *Zh. Nevrol. Psikiatr. Im S. S. Korsakova* [Article in Russian].— 2016.— Vol. 116, № 1.— P. 104–112.
489. Effects of fasting on oxidative stress in rat liver mitochondria / M. Sorensen, A. Sanz, J. Gomez et al. // *Free Radic. Res.*— 2006.— Vol. 40, № 4.— P. 339–347.
490. Antisense oligonucleotide inhibition of acetylcholinesterase gene expression induces progenitor cell expansion and suppresses hematopoietic apoptosis ex vivo / H. Soreq, D. Patinkin, E. Lev-Lehman et al. // *Proc. natl. acad. sci. U S A.*— 1994.— Vol. 91, № 17.— P. 7907–7911.
491. Pregnane x receptor-humanized mice recapitulate gender differences in ethanol metabolism but not hepatotoxicity / K. Spruiell, A. A. Gyamfi, S. T. Yeyeodu et al. // *J. Pharmacol Exp. Ther.*— 2015.— Vol. 345, № 3.— P. 459–470.
492. Tryptophan supplementation modulates social behavior: A review / L. Steenbergen, B. J. Jongkees, R. Sellaro et al. // *Neurosci Biobehav Rev.*— 2016.— Vol. 64.— P. 346–358.
493. Stepniak, J. 17 β -estradiol prevents experimentally-induced oxidative damage to membrane lipids and nuclear DNA in porcine ovary / J. Stepniak, M. Karbownik-Lewinska // *Syst. Biol. Reprod. Med.*— 2015.— Vol. 17.— P. 1–5.
494. The stress response and the regulation of inflammatory disease / E. M. Sternberg, G. P. Chrousos, R. L. Wilder et al. // *Ann. Intern Med.*— 1992.— Vol. 117, № 10.— P. 854–866.
495. Stohl, H. A rock and a hard place: The selective serotonin reuptake inhibitor dilemmas in addressing perinatal mood and anxiety disorders / H. Stohl, A. D. Kohm, E. Dossett // *J. Neonatal Perinatal Med.*— 2016.— Vol. 9, № 1.— P. 1–5.
496. Mitochondria can orchestrate sex differences in cell fate of vascular smooth muscle cells from rats / E. Straface, R. Vona, I. Campesi et al. // *Biol. Sex Differ.*— 2015.— Vol. 16.— P. 6–34.
497. Strasser, B. Mood, food, and cognition: role of tryptophan and serotonin / B. Strasser, J. M. Gostner, D. Fuchs // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.*— 2016.— Vol. 19, № 1.— P. 55–61.

498. Strasser, B. Mood, food, and cognition: role of tryptophan and serotonin / B. Strasser, J. M. Gostner, D. Fuchs // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.*— 2016.— Vol. 19, № 1.— P. 55–61.
499. Suphanklang, J. Combination of escitalopram and rasagiline induced serotonin syndrome: a case report and review literature / J. Suphanklang, W. Santimaleeworagun, O. Supasindh // *J. Med. Assoc. Thai.*— 2015.— Vol. 98, № 12.— P. 1254–1257.
500. Swaab, D. F. The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration / D. F. Swaab, A. M. Bao, P. J. Lucassen // *Ageing. Res. Rev.*— 2005.— Vol. 4, № 2.— P. 141–94
501. Comparison of the nicotinamide catabolism among rat strains / K. Takahashi, A. Okuno, T. Fukuwatari et al. // *Biosci Biotechnol Biochem.*— 2009.— Vol. 73, № 2.— P. 274–279.
502. Melatonin as a Potent and Inducible Endogenous Antioxidant: Synthesis and Metabolism / D. X. Tan, L. C. Manchester, E. Esteban-Zubero et al. // *Molecules.*— 2015.— Vol. 20, № 10.— P. 18886–18906.
503. Magnesium deficiency and stress: Issues of their relationship, diagnostic tests, and approaches to therapy / E. A. Tarasov, D. V. Blinov, U. V. Zimovina et al. // *Ter Arkh [Article in Russian]*.— 2015.— Vol. 87, № 9.— P. 114–122.
504. Induced sputum eosinophils, bronchial reactivity, and cough sensitivity in subjects with allergic rhinitis / M. Tatar, J. Petriskova, J. Zucha et al. // *J. of physiology and pharm.*— 2005.— Vol. 56.— P. 227–236.
505. Tian, X. Protective effect of l-theanine on chronic restraint stress-induced cognitive impairments in mice / X. Tian, L. Sun, L. Gou et al. // *Brain Res.*— 2013.— Vol. 153.— P. 24–32.
506. Titov, M. I. Dalargin, peptide preparation with cytoprotective action / M. I. Titov, V. A. Vinogradov, Zh. D. Besspalova // *Biull. Vsesoiuznogo Kardiolog. Nauchn. Tsentra AMN SSSR.*— 1985.— Vol. 8, № 2.— P. 72–75.
507. Oxidative stress triggers cytokinesis failure in hepatocytes upon isolation / A. M. Tormos, R. Taléns-Visconti, A. Bonora-Centelles et al. // *Free Radic. Res.*— 2015.— Vol. 49, № 8.— P. 927–934.

508. Evaluation of serum vitamin D levels in patients with X syndrome / F.N. Turhan Caglar, I. Ungan, V. Ksanski et al. // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* — 2016. — Vol. 20, № 6. — P. 1155–1160.
509. Specific phosphorylations transmit signals from leukocyte $\beta 2$ to $\beta 1$ integrins and regulate adhesion / L.M. Uotila, F. Jahan, L. Soto Hinojosa et al. // *J. Biol. Chem.* — 2014. — Vol. 289 — P. 32230–32242.
510. Urking, R. Review of genetic investigations into the aging processes of *Drosophila* / R. Urking, S.P. Dudas // *J. Amer. Geriatr. Soc.* — 1989. — Vol. 37, № 8. — P. 757–763.
511. Utrera, M. Oxidative damage to poultry, pork, and beef during frozen storage through the analysis of novel protein oxidation markers / M. Utrera, M. Estévez // *J. Agric. Food Chem.* — 2013. — Vol. 61, № 3 — P. 7987–7993.
512. Lactation affects isolated mitochondria and its fatty acid composition but has no effect on tissue protein oxidation, lipid peroxidation or dna-damage in laboratory mice / T.G. Valencak, J. Raith, K. Staniek et al. // *Antioxidants (Basel)*. — 2016. — Vol. 5, № 1. — P. 3–13.
513. Aging-associated changes in oxidative stress, cell proliferation, and apoptosis are prevented in the prostate of transgenic rats overexpressing regucalcin / C.V. Vaz, R. Marques, C.J. Maia, S. Socorro // *Transl. Res.* — 2015. — Vol. 166, № 6. — P. 693–705.
514. Velling, D.A. Sustained-release niacin for prevention of migraine headache / D.A. Velling, D.W. Dodick, J.J. Muir // *Mayo Clin Proc.* — 2003. — Vol. 78, № 6. — P. 770–781.
515. Venkataraman, K. Oxidative stress in aging-matters of the heart and mind / K. Venkataraman, S. Khurana, T.C. Tai // *Int. J. Mol. Sci.* — 2013. — Vol. 14, № 9. — P. 17897–17925.
516. Vogel, C. Protein expression regulation under oxidative stress / Christine Voge Gustavo Monteiro Silva and Edward M. Marcotte // *Mol. Cell Proteomics*. — 2011. — Vol. 10, № 12. — P. 111–117.
517. Vohra, B.P. Age-dependent variations in mitochondrial and cytosolic antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different regions of central nervous system of guinea pigs / B.P. Vohra, S.P. Sharma, V.K. Kansal // *Indian J. Biochem. Biophys.* — 2001. — Vol. 38, № 5. — P. 321–326.

518. Stress as necessary component of realistic recovery in animal models of experimental stroke / F.R. Walker, K.A. Jones, M.J. Patience et al. // *J Cereb. Blood Flow. Metab.*— 2014.— Vol. 34, № 2.— P. 208–214.
519. Hesperidin alleviates cognitive impairment, mitochondrial dysfunction and oxidative stress in a mouse model of Alzheimer's disease / D. Wang, L. Liu, X. Zhu et al. // *Cell Mol Neurobiol.*— 2014.— Vol. 34, № 8.— P. 1209–1221.
520. Watzlawik, J. O. Tryptophan catabolites and their impact on multiple sclerosis progression / J. O. Watzlawik, B. Wootla, M. Rodriguez // *Curr. Pharm. Des.*— 2016.— Vol. 22, № 8.— P. 1049–1059.
521. Immune responses in mice to arecoline mediated by lymphocyte muscarinic acetylcholine receptor / X. Wen, Y. Zhang, X. Liu et al. // *Cell biology international.*— 2006.— Vol. 30.— P. 1048–1053.
522. Chronic immobilization stress alters aspects of emotionality and associative learning in the rat / G. E. Wood, E. H. Norris, E. Waters et al. // *Behav Neurosci.*— 2008.— Vol. 122, № 2.— P. 282–292.
523. Woodhouse, P. R. Seasonal variation of serum lipids in an elderly population / P. R. Woodhouse, K. T. Khaw, M. Plummer // *Age Ageing.*— 1993.— № 4.— P. 273–278.
524. Wu, M. Acetylcholinesterase inhibitors activate septohippocampal GABAergic neurons via muscarinic but not nicotinic receptors / M. Wu, S. S. Newton, J. B. Atkins // *J. Pharm. Experim. Therapeut.*— 2003.— Vol. 307, № 2.— P. 535–543.
525. Lipid peroxide level in the senescence-accelerated mouse / K. Yagi, K. Yoshino, S. Komura et al. // *J. Clin. Biochem. and Nutr.*— 1988.— Vol. 5, № 5.— P. 21–27.
526. Mitochondrial respiratory function and antioxidant capacity in normal and cirrhotic livers following partial hepatectomy / S. Yang, T. M. Tan, A. Wee et al. // *Cell Mol. Life Sci.*— 2004.— Vol. 61, № 2.— P. 220–229.
527. Yarygin, K. N. Cell-based therapies of liver diseases: age-related challenges / K. N. Yarygin, A. Y. Lupatov, I. V. Kholodenko // *Clin. Interv. Aging.*— 2015.— Vol. 10.— P. 1909–1924.

528. Decreasing mitochondrial fission prevents cholestatic liver injury / T. Yu, L. Wang, H. Lee et al. // *J. Biol. Chem.*— 2014.— Vol. 49, № 3.— P. 34074–34088.
529. Eicosanoids derived from arachidonic acid and their family prostaglandins and cyclooxygenase in psychiatric disorders / K. Yui, G. Imataka, H. Nakamura et al. // *Curr. Neuropharmacol.*— 2015.— Vol. 13, № 6.— P. 776–785.
530. Antioxidant Effects of Medicinal Mushrooms *Agaricus brasiliensis* and *Ganoderma lucidum* (Higher Basidiomycetes): Evidence from Animal Studies. / B. Yurkiv, S. P. Wasser, E. Nevo et al. // *Int. J. Med. Mushrooms.*— 2015.— Vol. 17, № 10.— P. 943–955.
531. Zarazaga, L.A. Amplitude of the plasma melatonin nycthemeral rhythms is not associated with the dates of onset and offset of the seasonal ovulatory activity in the Ile-de-France ew / L.A. Zarazaga, B. Malpoux, P. Chemineau // *Reprod Nutr. Dev.*— 2003.— Vol. 43, № 2.— P. 167–177.
532. Oxidative stress and mitochondrion-related cell apoptosis in human bronchial epithelial 16HBE cells induced by silica dust / Z. Zhang, Y. Rong, X. Cui et al. // *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.*— 2015.— Vol. 33, № 8.— P. 801–805.
533. Methionine enkephalin, its role in immunoregulation and cancer therapy / D. Zhao, N. Plotnikoff, N. Griffin et al. // *Int. Immunopharmacol.*— 2016.— Access mode: <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2016.02.015>
534. Zimniak, P. Relationship of electrophilic stress to aging / P. Zimniak // *Free Radic Biol. Med.*— 2011.— Vol. 51, № 6.— P. 1087–1105.
535. Impact of cholesterol lowering treatment on plasma kynurenine and tryptophan concentrations in chronic kidney disease: relationship with oxidative stress improvement / A. Zinellu, S. Sotgia, A.A. Mangoni et al. // *Nutr. Metab. Cardiovasc Dis.*— 2015.— Vol. 25, № 2.— P. 153–159.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

Ег	– эритроциты
hν	– электромагнитное излучение
n	– выборка
Тгр	– L-триптофан
Тгр+Н.к.	– совместное действие L-триптофана и никотиновой кислоты
АО	– антиоксидант
АОА	– антиокислительная активность
АОЗ	– антиокислительная защита
АОС	– антиокислительная система
АОФ	– антиокислительные ферменты
Н.к.	– никотиновая кислота, витамин РР
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДОФА	– диоксифенилаланин
КАОА	– коэффициент антиокислительной активности
КПОЛ	– коэффициент перекисного окисления липидов
КСДА	– коэффициент суммарной двигательной активности
ЛК	– липопротеиновый коэффициент
ЛП	– липопротеины
ЛПВП	– липопротеины высокой плотности
ЛПНП	– липопротеины низкой плотности
ЛПОНП	– липопротеины очень низкой плотности
МАО	– моноаминоксидаза
мРНК	– матричная рибонуклеиновая кислота
МС	– межклеточная среда
М–ХР	– мускариновые холинорецепторы
ОАА	– общая антиокислительная активность
ОЛ	– общие липиды
ОХ	– общий холестерин
ПОЛ	– перекисное окисление липидов
ПОЛ/АОА	– перекисное окисление липидов/антиокислительная активность
РНК	– рибонуклеиновая кислота
ТГ	– триглицериды
ФДЭ	– фосфодиэстераза
ФЛ	– фосфолипиды
ФЛА2	– фермент фосфолипазы А2
ХС	– холестерин
цАМФ	– циклическая аденозинмонофосфорная кислота
ЦНС	– центральная нервная система

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	3
-----------------------	---

ГЛАВА 1.

ОБЗОР СОВРЕМЕННЫХ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О КЛЕТОЧНЫХ И СУБКЛЕТОЧНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЯХ В ГЕРОНТОЛОГИИ.	6
--	---

1.1. Перекисное окисление липидов и антиокислительная активность в норме	6
1.2. Перекисное окисление липидов и антиокислительная активность при патологии.	10
1.3. Возрастные особенности изменения процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности	13
1.3.1. Изменения в печени животных и человека	16
1.3.2. Изменения в системе крови животных и человека	20
1.4. Изменения в клеточных и субклеточных структурах печени при активации регенераторных процессов.	21
1.4.1. Изменения интенсивности процессов перекисного о кисления липидов и антиокислительной активности	22
1.4.2. Особенности участия фосфолипидов в клеточной и субклеточной регенерации печени	27
1.5. Цитоэффektorные и антиоксидантно-прооксидантные свойства адренергической и холинэргической систем	31
1.5.1. Участие адренергической системы в стресс-реакции и регуляции регенераторных процессов	33
1.5.2. Участие холинэргической системы в стресс-реакции и регуляции регенераторных процессов	36
1.6. Цитопротекторные и антиокислительные свойства даларгина	37
1.7. Антиоксидантные и седативные свойства комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты	41

ГЛАВА 2.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 48

- 2.1. Общая характеристика лабораторных животных 48
- 2.2. Этапы исследования и проводимые на животных воздействия 49
- 2.3. Получение периферической крови, миелокариоцитов и гомогенатов органов крыс 57
- 2.4. Получение субклеточных фракций гепатоцитов печени крыс. . . 58
- 2.5. Методы оценки состояния перекисного окисления липидов в органах, периферической крови и субклеточных фракциях гепатоцитов у крыс 59
- 2.6. Методы оценки состояния антиокислительной активности в органах, периферической крови и субклеточных фракциях гепатоцитов у крыс 60
- 2.7. Расчет интегральных коэффициентов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности 62
- 2.8. Методы оценки липидного и липопротеинового состава крови, органов и субклеточных фракций гепатоцитов у крыс 63
- 2.9. Морфологическое исследование периферической крови и надпочечников крыс 64
- 2.10. Методы доказательства развития стресс-реакции у крыс при иммобилизационном стресс-воздействии 65
- 2.11. Некоторые вспомогательные лабораторные методы исследования 66
- 2.12. Методы статистической обработки результатов исследования. . 67

ГЛАВА 3.

ВЛИЯНИЕ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕСС-ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ИЗМЕНЕНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, АНТИОКИСЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ СОСТАВ КРОВИ КРЫС ЗРЕЛОГО И СТАРОГО ВОЗРАСТА 68

- 3.1. Состояние процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии 69

3.1.1. Состояние процессов перекисного окисления липидов в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	70
3.1.2. Состояние процессов антиокислительной активности в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	72
3.2. Изменения лейкоцитарного состава периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	78
3.3. Состояние процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в миелокариоцитах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	88
3.3.1. Состояние процессов перекисного окисления липидов в миелокариоцитах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	89
3.3.2. Состояние процессов перекисного окисления липидов в межклеточной среде костного мозга у зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	92
3.3.3. Участие процессов перекисного окисления липидов в изменении количества ретикулоцитов в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	95
3.3.4. Участие фосфолипазы A2 в изменении интенсивности процессов перекисного окисления липидов миелокариоцитов костного мозга зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	101
3.2.5. Состояние антиокислительной активности в миелокариоцитах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	103

ГЛАВА 4.

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКИСЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ ПЕЧЕНИ У ЗРЕЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕСС-ВОЗДЕЙСТВИИ, ЧАСТИЧНОЙ ГЕПАТЭКТОМИИ И КОРРЕКЦИИ ЭТИХ СОСТОЯНИЙ НЕЙРОМЕДИАТОРАМИ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ	108
--	-----

4.1. Изменения показателей перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в субклеточных фракциях печени у зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	109
4.2. Изменения перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в субклеточных фракциях печени у зрелых и старых крыс в условиях вызванной регенерации при частичной гепатэктомии	118
4.3. Изменения перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в субклеточных фракциях печени у зрелых и старых крыс на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием	125
4.4. Коррекция адреналином изменений перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в субклеточных фракциях печени у зрелых и старых крыс на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием	134
4.5. Коррекция ацетилхолином изменений перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в субклеточных фракциях печени у зрелых и старых крыс на фоне регенерации, вызванной частичной гепатэктомией в сочетании с иммобилизационным стресс-воздействием	142

ГЛАВА 5.

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКИСЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ У ЗРЕЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕСС-ВОЗДЕЙСТВИИ	151
---	-----

5.1. Изучение действия адреналина и ацетилхолина на изменения перекисного окисления липидов и антиокислительную активность в периферической крови и костном мозге у зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии . .	152
5.1.1. Влияние ацетилхолина и адреналина на изменение интенсивности процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	153

5.1.2. Влияние ацетилхолина и адреналина на изменения интенсивности процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в миелокариocyтах костного мозга зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	157
5.2. Влияние адреналина и ацетилхолина на процессы перекисного окисления липидов в миелокариocyтах зрелых и старых крыс <i>in vitro</i>	164
5.2.1. Изменение перекисного окисления липидов в миелокариocyтах зрелых и старых крыс при инкубации с адреналином <i>in vitro</i>	165
5.2.2. Изменение перекисного окисления липидов в миелокариocyтах зрелых и старых крыс при инкубации с ацетилхолином <i>in vitro</i>	170
 ГЛАВА 6.	
ВЛИЯНИЕ ДАЛАРГИНА НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ, АНТИОКИСЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И ЛИПИДНО-ЛИПОПРОТЕИНОВЫЙ СОСТАВ У ЗРЕЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕСС-ВОЗДЕЙСТВИИ	179
6.1. Влияние даларгина на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	180
6.2. Влияние даларгина на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в костном мозге зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	182
6.3 Влияние даларгина на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в головном мозге зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	189
6.4. Влияние даларгина на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в печени зрелых и старых крыс при иммобилизационном с тресс-воздействии	192
6.5. Влияние даларгина на изменение липидного и л ипопротеинового состава крови у зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии	194

ГЛАВА 7.

ВЛИЯНИЕ КОМБИНАЦИИ L-ТРИПТОФАНА И НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ, АНТИОКИСЛИТЕЛЬНОЮ АКТИВНОСТЬ И ЛИПИДНО-ЛИПОПРОТЕИНОВЫЙ СОСТАВ У ЗРЕЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕСС-ВОЗДЕЙСТВИИ 204

- 7.1. Влияние комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты
на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной
активности в периферической крови зрелых и старых крыс
при иммобилизационном стресс-воздействии 205
- 7.2. Влияние комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты
на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной
активности в миелокариоцитах зрелых и старых крыс
при иммобилизационном стресс-воздействии 208
- 7.3. Влияние комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты
на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной
активности в головном мозге зрелых и старых крыс
при иммобилизационном стресс-воздействии 213
- 7.4. Влияние комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты
на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительной
активности в печени зрелых и старых крыс
при иммобилизационном стресс-воздействии 217
- 7.5. Влияние комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты
на изменение липидного и липопротеинового состава
крови у зрелых и старых крыс в норме и при
иммобилизационном стресс-воздействии 220
- 7.6. Влияние комбинации L-триптофана и никотиновой кислоты
на психоэмоциональное состояние зрелых и старых крыс
при иммобилизационном стресс-воздействии 228

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 231

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 246

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ 301

Научное издание

Виктор Николаевич Мещанинов
Денис Леонидович Щербаков
Вячеслав Александрович Лукаш

МЕТАБОЛИЗМ КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР
ПРИ СТАРЕНИИ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

ISBN 978-5-89895-850-3

Авторы выражают глубокую признательность ректору ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, доктору медицинских наук, профессору, члену-корреспонденту РАН, заслуженному врачу РФ Кутепову Сергею Михайловичу и главному врачу ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», доктору медицинских наук, профессору Леонтьеву Сергею Леопольдовичу за создание условий для проведения научных исследований

*Редактор Е. Бортникова
Корректор Л. Моисеева
Дизайн, верстка А. Шевела*

Оригинал-макет подготовлен:
Издательство УГМУ
г. Екатеринбург, ул. Репина, 3, каб. 310
Тел.: (343) 214–85–65
E-mail: pressa@usma.ru